



# DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

## Vergleich der Rehydrierungslösungen für die paläohistologische Untersuchung von Mumiengewebe diverser Herkunft

Verfasserin

Astrid Grumer

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 437 442

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Biologie/ Anthropologie

Betreuerin / Betreuer: a.o.Univ.- Prof. Dr. MariaTeschler-Nicola



## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b>	1
1.1 Allgemeine Einführung	1
1.2 Geschichte der Paläohistologie	3
1.3 Histologie vs. Paläohistologie und Problemstellung	4
1.4 Aufbau der verwendeten Gewebe	5
1.4.1 Aufbau einer rezenten Lunge	5
1.4.2 Aufbau einer rezenten Haut	6
1.4.3 Aufbau der Leber	9
1.4.4 Aufbau der Niere	9
1.4.5 Aufbau des Knochens	10
1.5 Erhaltungszustand mumifizierter Gewebe aus der Literatur	11
1.5.1 Innere Organe	11
1.5.2 Haut	12
1.5.3 Knochen	12
1.6 Fragestellung und Ziel dieser Studie	13
<b>2 Material und Methoden</b>	14
2.1 Übersicht aller Proben	14
2.2 Herkunft und Geschichte der Proben	15
2.2.1 Mumien aus Piraino	15
2.2.2 Natürliche Eismumie	16
2.2.3 Ötzi 3	16
2.2.4 Zweeloo Frau	17
2.2.5 Rezente Proben	17
2.3 Geräte	17
2.4 Chemikalien	18
2.5 Laborzubehör	19

## Inhaltsverzeichnis

2.6 Softwares .....	20
2.7 Allgemeine Einführung zu den Methoden .....	20
2.8 Probenentnahme .....	21
2.8.1 Lungengewebe und Hautgewebe aus Piraino .....	21
2.8.2 Hautgewebe der natürlichen Eismumie .....	22
2.8.3 Hautgewebe der künstlichen Eismumie Ötzi3 .....	22
2.8.4 Gewebe der Moormumie .....	22
2.9 Rehydrierungsmethoden .....	23
2.9.1 Allgemein .....	23
2.9.2 Arbeitsschritte für die Rehydrierung .....	25
2.10 Fixierung .....	25
2.10.1 Allgemein .....	25
2.10.2 Arbeitsschritte für die Fixierung .....	26
2.11 Dehydrierung .....	26
2.11.1 Allgemein .....	26
2.11.2 Arbeitsschritte zur Dehydrierung .....	27
2.12 Einbettung .....	27
2.12.1 Allgemein .....	27
2.12.2 Arbeitsschritte für die Einbettung .....	27
2.12.3 Reduzierung der Dehydrierungszeiten .....	28
2.13 Schnitte .....	29
2.13.1 Allgemein .....	29
2.13.2 Arbeitsschritte für die Schnittherstellung .....	29
2.14 Entparaffinieren .....	30
2.14.1 Allgemein .....	30
2.15 Färben .....	31
2.15.1 Allgemein .....	31
2.15.2 Hämatoxylin-Eosin Färbung .....	31

## Inhaltsverzeichnis

2.15.3 PAS Färbung (Perjodsäure-Schiff-Reaktion) .....	33
2.15.4 Giemsa .....	35
2.15.5 Grocott (Silbermethenamin) .....	37
2.15.6 Gram Färbung .....	39
2.15.7 Modifizierung der Entparaffinierungszeiten und Dehydrierungszeiten bei der Färbung .....	40
2.16 Mikroskopieren und Photographieren .....	41
2.17 Bewertung .....	42
2.17.1 Bewertungskriterien der Lungenprobe .....	41
2.17.2 Bewertungskriterien der Hautproben .....	42
2.17.3 Bewertungskriterien für die Leber, die Niere und den Knochen .....	43
<b>3 Ergebnisse</b> .....	<b>45</b>
3.1 Lunge .....	45
3.1.2 Bewertung der untersuchten Lunge .....	45
3.1.3 Bildervergleich der Rehydrierungsqualitäten .....	46
3.1.4 Bildvergleich zum Überblick und Strukturerehalt .....	48
3.1.5 Bildervergleich zur HE Färbung .....	50
3.1.6 Bildvergleich zur PAS Färbung .....	53
3.1.7 Bildervergleich zu den Details .....	54
3.1.8 Besonderheiten .....	56
3.1.9 Rezente Lunge .....	59
3.1.10 Zusammenfassung der Ergebnisse der Lunge .....	59
3.2 Haut .....	61
3.2.1 Bewertung der untersuchten Hautproben .....	61
3.2.2 Ergebnisse der Haut der Trockenmumie Nr. 18 aus Piraino .....	61
3.2.2.1 NEG .....	61

## Inhaltsverzeichnis

3.2.2.2 Solution III .....	61
3.2.2.3 Wiest et al. ....	61
3.2.2.4 Sandison .....	62
3.2.2.5 Glycerin/ 4% Formaldehyd .....	62
3.2.2.6 Bildervergleich des Strukturverlustes .....	63
3.2.2.7 Bildervergleich des Strukturverlustes bei unterschiedlicher Einwirkungszeit .....	63
3.2.2.8 Bildervergleich bei unterschiedlicher Dehydrierungsdauer .....	64
3.2.2.9 Bild zu den Besonderheiten .....	64
3.2.2.10 Zusammenfassung der Ergebnisse der Trocken- Mumie Piraino 18 .....	65
3.2.3 Ergebnisse der natürlichen Eismumie .....	66
3.2.3.1 NEG .....	66
3.2.3.2 Solution III .....	67
3.2.3.3 Wiest et al. ....	67
3.2.3.4 Sandison .....	67
3.2.3.5 Bildervergleich des Strukturverlustes .....	67
3.2.3.6 Bilder zu den Besonderheiten .....	68
3.2.3.7 Zusammenfassung der Ergebnisse der natürlichen Eismumie .....	69
3.2.4 Ergebnisse der künstlichen Eismumie Ötzi 3 .....	70
3.2.4.1 NEG .....	70
3.2.4.2 Solution III .....	71
3.2.4.3 Wiest et al. ....	71
3.2.4.4 Sandison .....	71
3.2.4.5 Bildervergleich des Strukturverlustes .....	72
3.2.4.6 Bilder zu den Details .....	73

## Inhaltsverzeichnis

3.2.4.7 Bilder zu den Besonderheiten .....	74
3.2.4.8 Zusammenfassung der Ergebnisse der künstlichen Eismumie Ötzi 3 .....	74
3.2.5 Rezente Haut .....	75
3.2.7 Zusammenfassung der Hautproben .....	77
3.3 Ergebnisse der Zweeloo Frau .....	77
3.3.1 Knöchernes Material .....	77
3.3.2 Rezenter Knochen .....	78
3.3.3 Niere .....	79
3.3.4 Rezente Niere .....	80
3.3.5 Leber .....	81
3.3.5.1 Pathologie der Leber .....	81
3.3.6 Rezente Leber .....	82
3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse aller Proben bezüglich des Erhaltungszustandes .....	83
3.5 Fazit .....	85
<b>4 Diskussion .....</b>	<b>86</b>
4.1 Dekompositionsprozess .....	87
4.2 Rehydrierungen .....	88
4.2.1 Wirkung der Reagenzien .....	88
4.2.1.1 Wirkung des Natriumcarbonats .....	88
4.2.1.2 Wirkung der Ethanol's .....	89
4.2.1.3 Wirkung des Formaldehyds .....	89
4.2.1.4 Wirkung der Saccharose Lösung .....	89
4.2.1.5 Wirkung der Brij® Lösung .....	89
4.2.1.6 Wirkung der Glucose .....	89

## Inhaltsverzeichnis

4.2.2 Solution III .....	90
4.2.3 Solution II .....	91
4.2.4 Ruffer I .....	92
4.2.5 Ruffer II .....	93
4.2.6 Zimmermann .....	93
4.2.7 Glycerin/ 4% Formaldehyd .....	94
4.2.8 Negativ Kontrolle .....	94
4.2.9 Wiest et al. ....	96
4.2.10 Sandison .....	97
4.3 Einfluss der Fixierung .....	98
4.4 Färbungen .....	99
4.4.1 HE-Färbung .....	99
4.4.2 PAS Färbung .....	100
4.4.3 Giemsa .....	102
4.4.4 Grocott .....	103
4.5 Diskussion der Ergebnisse der Lunge .....	103
4.5.1 Untersuchungen der Lunge aus der Literatur .....	105
4.6 Diskussionen der Hautproben .....	106
4.6.1 Hautprobe der Trockenmumie aus Piraino .....	106
4.6.2 Hautprobe der künstlichen Eismumie .....	107
4.6.3 Hautprobe der natürlichen Eismumie .....	109
4.6.4 Vergleich aller Hautproben mit der rezenten Haut .....	110
4.6.5 Untersuchungen von Hautproben aus der Literatur .....	110
4.7 Diskussion der Proben der Moormumie .....	112
4.7.1 Niere .....	113
4.7.1.1 Vergleich mit einer rezenten Niere .....	113
4.7.2 Leber .....	113

## Inhaltsverzeichnis

4.7.2.1 Vergleich mit einer rezenten Leber .....	113
4.7.3 Untersuchungen von Eingeweideproben aus der Literatur .....	114
4.7.4 Knochen .....	114
4.7.4.1 Vergleich mit einem rezenten Knochen .....	114
4.7.4.2 Untersuchungen von Knochen aus dem Moor aus der Literatur .....	114
<b>5 Zusammenfassung</b> .....	116
<b>6 Summary</b> .....	119
<b>7 Literaturverzeichnis</b> .....	121
<b>8. Abbildungsverzeichnis</b> .....	131
<b>9 Diagrammverzeichnis</b> .....	135
<b>10 Tabellenverzeichnis</b> .....	136
<b>11 Anhang</b> .....	137
<b>12 Danksagung</b> .....	147
<b>13 Curriculum vitae</b> .....	148



# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Allgemeine Einführung

Überall auf der Welt findet man immer wieder natürlich mumifizierte Menschen und Tiere im Eis, Moor und in sehr trockenen bzw. windigen Gebieten. Eismumien haben im Vergleich zu Trockenmumien einen Seltenheitswert, ein berühmtes Beispiel hierfür bietet der „Mann vom Hauslabjoch“, Ötzi. Ötzi ist mit 5300 Jahren die älteste und daher berühmteste Eismumie der Welt, zahlreiche Untersuchungen wurden von Wissenschaftlern (Zink A., Egarter-Vigl E., Spindler K., Bereuter T. L., Lorbeer E., Reiter C. Seidler H., Wilfing H., Platzer W. u.a.) aus diversen Fachbereichen (Histologie, Radiologie, CT-Scan, DNA-Analysen, Endoskopie) durchgeführt [SPINDLER et al., 1996]. Ein weiterer bemerkenswerter Fund wurde in der Kanadischen Arktis geborgen, durch den Permafrost und die leichte Exsikkation der Leichname konnte ein fenomenaler Erhaltungszustand auch der inneren Organe festgestellt werden [AUFDERHEIDE (c), 2003].

Eine weitere Form natürlicher Mumifizierung sind Moorleichen. Durch die im Torf vorkommenden Huminsäuren wird das Bakterienwachstum gehemmt und die Mumifizierung von Geweben wird begünstigt. [AUFDERHEIDE (d), 2003]. Der prähistorische Tollund Mann aus Dänemark, das Windeby Mädchen aus Deutschland, der Grauballe Mann aus Dänemark sind nur einige der bekannten Moormumien [FISCHER, 1989].

Natürliche, auch spontane Trockenmumien genannt, entstehen durch schnelle Dehydrierung des Leichnams, z.B. in Wüsten oder trockenen Höhlen [COCKBURN, 1998]. Die im Sand frisch begrabenen Körper dehydrieren in der Hitze der Wüste und geben die Körperflüssigkeiten dem umliegenden Sand ab [DAVID (b), 1984]. Natürliche Trockenmumien findet man auch zahlreich in Italien (Venzona, Urabnia, Ferentillo, Rocca di Papa, Navelli, Altavilla Irpina, Savoca, Comiso, in den Kapuziner Katakomben von Palermo, u. a.) in Katakomben, Gruften, Kirchen und Höhlen. Es wird vermutet, dass die Mumifizierung aufgrund des trockenen Klimas, den heißen Sommern und den milden Wintern resultiert [FORNACIARI, 1998].

## Einleitung

Nach dem Vorbild der Natur entwickelte der Mensch Methoden und Techniken um die Verstorbenen zu konservieren, diese Art der Konservierung wird artifizielle Mumifizierung genannt [FLEURY, 2007]. Schon vor ca.2500 v. Chr. konservierten die Ägypter Leichen, wahrscheinlich aus religiösen Gründen, inspiriert durch den Glauben an ein Leben nach dem Tod. Die Körper wurden mit Natron dehydriert und bandagiert wobei die äußerste Bandage mit Harzen behandelt wurde. Nach und nach wurden die Mumifizierungstechniken weiter entwickelt, Eingeweide wurden entnommen, behandelt und manchmal wieder in den Körper gelegt, oder der Thorax wurde mit Leinetüchern, Lehm und Tonscherben ausstaffiert [DAVID (b), 1984]. Künstlich mumifizierte Menschen kennen wir z.B. aus dem alten Ägypten, Südamerika, Europa, oder auch aus Asien [AUFDERHEIDE (d), 2003].

Schließlich gibt es auch noch spontan- unterstützte Mumien, also natürliche Trockenmumien, welche durch eine simple, anthropogene Methode dehydrieren. Dazu wurden die Leichen weder eviszeriert, noch einer Kraniotomie unterzogen, sie wurden in den Krypten der Kirche sitzend in so genannte „colatoi“ aus Ton positioniert, um die Körperflüssigkeiten abfließen zu lassen. Nach einigen Monaten wird der noch biegsame Körper in horizontaler Lage mit mineralreicher Vulkanerde bedeckt, um die Mumifizierung zu komplettieren. Beispiele dafür sind die Mumie „Santa Zita“ aus der Toskana, „Pandolfo Malatesta“ der Prinz aus Fano, [FORNACIARI, 1998].

Mumien liefern uns interessante Einblicke in die Vergangenheit. Durch interdisziplinäre Forschungsgruppen aus diversen Fachbereichen wie z.B. die Histologie [SHAW, 1938; GRAF, 1949; SANDISON, 1955; ZIMMERMANN und TEDFORD, 1976; GICOMETTI und CHIARELLI, 1968; MEKOTA und VERMEHREN, 2004], die Radiologie [COCKBURN et al., 1975; ALLISON et al., 1977; BROTHWELL et al., 1969], CT Untersuchungen [LEWIN, 1996; SCOTT et al., 1977] und DNA- Analysen [LEWIN, 1996; DORAN et al., 1986] gelingt es, mehr über die Lebensumstände und Krankheiten vergangener Zeiten zu erfahren, um daraus einen empirischen Gegenwartsbezug zu schaffen. Der Grundstein für eine interdisziplinäre Zusammenarbeit wurde 1973 im Rahmen des „Manchester Museum Mummy Project“ gelegt. Grundlegend waren zwei Ziele. Erstens, Methoden zur Mumienuntersuchung zu etablieren und zweitens, so viel wie möglich über die Lebensumstände, religiöse Riten, Bestattungsritualen, Ernährung, Krankheiten und den Mumifikationsprozess zu

## Einleitung

erfahren. Es kamen radiologische, histologische, chromatographische, makroskopische, mikroskopische, endoskopische Methoden inkl. der Radiokarbon Methode und DNA Untersuchungen zum Einsatz. 1979 wurde in Manchester die „International Mummy Database“ gegründet, sie soll die gesammelten Daten ägyptischer Mumien der ganzen Welt speichern und Auskunft über die diagnostizierten Krankheiten geben [DAVID, 1984].

Für diese Studie werden paläohistologische Methoden zur mikroskopischen Untersuchung unterschiedlich mumifizierter Weichgewebe und Knochen gewählt.

### **1.2 Geschichte der Paläohistologie**

Schon im 19. Jh. wurden histologische Untersuchungen von mumifiziertem Gewebe erstmals von Janos Czermak (1852) durchgeführt. Der tschechische Mediziner identifizierte Arteriosklerose an Ägyptischen Mumien [AUFDERHEIDE und RODRIGUEZ-MARTIN, 1998]. Vor dem mikroskopieren legte er die Zupfpräparate in eine Natriumhydroxid Lösung. Wilder untersuchte 1904 Hautproben von natürlich mumifizierten Mumien aus Nord- und Südamerika. 1909 diagnostizierte Shattock Arteriosklerose der Aorta eines ägyptischen Pharaos [AUFDERHEIDE (a), 2003]. Armand Ruffer erforschte und entwickelte grundlegende Techniken zur histologischen Untersuchung von Weichgeweben, welche heute noch zum Einsatz kommen [COCKBURN, 1998]. 1909 schrieb er die ersten Rehydrierungsprotokolle. Er legte die Gewebe in eine alkalische Natriumcarbonat Lösung, um die Proben weicher werden zu lassen und legte sie vor dem Weiterverarbeiten in Formalin oder in Alkohol, um es zu härten [DAVID und DENTON, 1984]. Simandl untersuchte knapp 20 Jahre später (1928) Haut- und Muskelproben ägyptischer Mumien und Williams (1927) Eingeweide zweier peruanischer Trockenmumien. In einer posterioren tibialen Arterie diagnostizierte Williams Arteriosklerose. 1938 entdeckte Shaw Anthrakose und Lungenemphyse an Eingeweiden ägyptischer Mumien [AUFDERHEIDE (a), 2003]. Sandison (1955) verfeinerte die Techniken von Ruffer. Fast drei Jahrzehnte später versuchten Turner und Halton die mumifizierten Gewebestücke in handelsüblichen Wäsche Weichspüler (Comfort®) einzulegen, um diese weicher werden zu lassen.

## Einleitung

Allerdings besteht dabei die Gefahr, dass der Weichspüler Bleichmittel enthält, die sich an das Gewebe anlagern und die anschließende Färbung beeinflussen. Auch muss erwähnt werden, dass kommerziell erwerbbar Produkte ständig neu verbessert und dem Kunden angepasst werden und diese Veränderung der Zusammensetzung des Produktes macht eine Standardisierung der Technik unmöglich [DAVID und DENTON, 1984]. Weitere Beiträge gelangen unter anderen auch Tapp, Schultz [AUFDERHEIDE (a), 2003], Zimmermann und Tedford [ZIMMERMANN und TEDFORD, 1967], Giacometti & Chiarelli [GIACOMETTI, CHIARELLI, 1968], Hess, Klima, Pfaller, Künzel und Gaber [HESS et al., 1998], Mekota & Vermehren [MEKOTA und VERMEHREN, 2004] und Rabino-Massa & Chiarelli [RABINO-MASSA und CHIARELLI, 1972].

Histologische Untersuchungen diverser Weichgewebe zeigen, dass es möglich ist, Krankheiten an mumifiziertem Gewebe festzustellen. El-Najjar et al. diagnostizierte eine Staublung 1985, Zimmermann und Aufderheide (1984) Anthrakose, Marchetti et al., (1996) und Zimmermann (2001) ein Adenocarcinom, Walker et al. (1987) eine Lungenentzündung und ein Lungenödem, Zimmermann (1990) Zirrhose.

### **1.3 Histologie vs. Paläohistologie und Problemstellung**

Die Histologie gilt als Teilgebiet der Anatomie und Pathologie, welche Teilgebiete der Medizin und der Biologie sind. Der Begriff „Histologie“ (griechisch) beschreibt die Lehre von den Geweben [PSCHYREMBEL (b), 1982]. Die Geschichte der Histologie geht bis ins 19. Jahrhundert zurück und spielt heute noch in den Krankenhäusern eine zentrale Rolle zur Identifizierung pathologisch veränderter Gewebeproben. Auch in der Paläontologie, ein Teilgebiet der Biologie, finden die histologischen Untersuchungsmethoden an antiken Gewebeproben Anwendung, bekannt als „Paläohistologie“. Jedoch ist die histologische Präparation frischer Gewebeproben nicht eins zu eins auf die Paläohistologie umsetzbar, da das Ausgangsmaterial erhebliche Unterschiede nicht nur zwischen frischem und mumifiziertem Gewebe, sondern auch zwischen den unterschiedlich konservierten Typen von Mumien zeigt. Das mumifizierte Gewebe kann im Gegensatz zu frischem Gewebe massiv dehydriert, spröde und zäh sein. Durch die besonderen Eigenschaften der jeweiligen Gewebestücke diverser

## Einleitung

Mumientypen ist es schwierig eine verallgemeinernde Aussage über die bestmögliche histologische Bearbeitung der Proben zu treffen. Deshalb bedarf es einer Mumientypen spezifischen Untersuchung. In dieser Untersuchung werden aus diesem Grund die Ergebnisse zum Strukturerhalt der Proben einer natürlichen und einer künstlichen Eismumie, einer Moorleiche und einer natürlichen Trockenmumie verglichen.

### **1.4 Aufbau der verwendeten Gewebe**

Um die Schnitte von antiken Geweben auswerten zu können, muss man wissen, wie der Aufbau eines rezenten Gewebes aussieht. Man muss wissen, welche Strukturen möglicherweise sichtbar werden, was man untersuchen möchte und dementsprechend die richtige Untersuchungstechnik wählen. Einfluss auf das Ergebnis haben die eventuell eingetretenen Abbauprozesse vor der Mumifizierung und jeder Arbeitsschritt bei der chemischen Verarbeitung der antiken Proben. Um die Qualität der Arbeitsschritte nicht zu beeinträchtigen und um Fehlerquellen möglichst zu vermeiden, wurde jeder Schritt streng nach Vorgabe der Protokolle abgewickelt.

Nachfolgend wird der Aufbau der Lunge, der Haut, der Leber, der Niere und eines Knochens beschrieben.

#### **1.4.1 Aufbau einer rezenten Lunge**

Jeder gesunde Mensch trägt zwei Lungenflügel in sich, die linke Seite unterteilt man in zwei Lappen, die rechte Seite in drei Lungenlappen, welche wiederum in Segmenten eingeteilt werden. Die Bronchien sind verästelte Ausläufer der Luftröhre, welche in die Lunge ziehen, ihr Durchmesser wird zunehmend kleiner, bis sie in die traubenförmig angeordneten Lungenbläschen, den Alveolen, übergehen. Dort findet der Gasaustausch statt. Die Alveolen sind netzartigen von elastischen Fasern umgeben. Die beiden Hauptbronchien bestehen aus Knorpelspannen und Schleimhaut mit Flimmerepithel. Während die Bronchien immer kleiner werden, verliert auch der Wandaufbau immer mehr an Dicke und wird einfacher. Die Lappenbronchien (5 Hauptäste der Bronchien) haben keine Knorpelspannen mehr, sie weisen nur mehr kleine Knorpelplättchen auf. In

## Einleitung

den knorpellosen Bronchiolen, das sind kleinste Verästelungen der Bronchien, beträgt der innere Durchmesser ca. 1 mm. Bronchiolen haben eine glatte Muskulatur, um die Atemluft aktiv zu regulieren. Die Blut-Luft-Schranke ist eine dünne Schicht, bestehend aus Alveolar- und Kapillarenendothel. Die Blutgefäße des Lungenkreislaufes dienen nur dem Gasaustausch, die Lunge an sich wird mit Blut aus dem Körperkreislauf der Bronchialarterien versorgt. In der Lunge gibt es auch Lymphgefäße, diese ziehen beim Lungenhilus mit den Hauptbronchien und den Blutgefäßen in das Gewebe ein [RENZ-POLSTER, 2003].

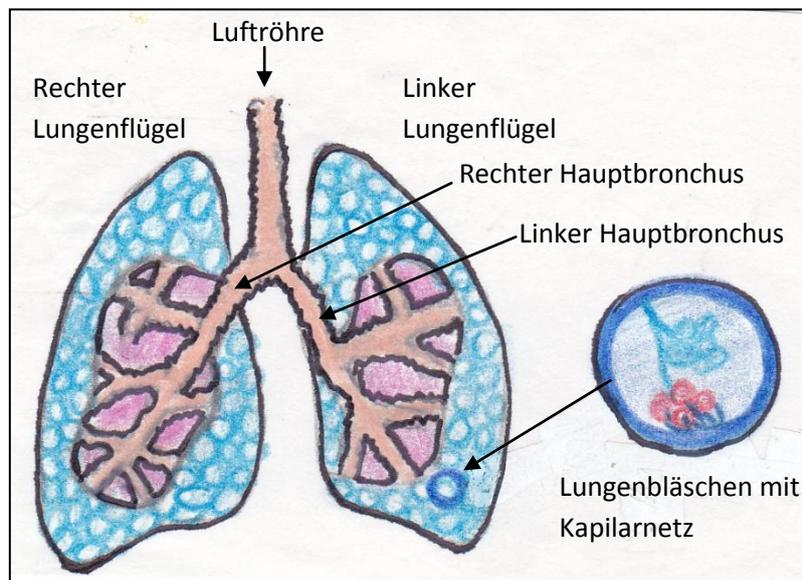


Abbildung 1: Aufbau der Lunge

### 1.4.2 Aufbau einer rezenten Haut

Die Haut besteht aus drei Schichten:

- der Epidermis (Oberhaut),
- der Dermis (Lederhaut oder Korium) und
- der Subkutis (Unterhaut).

#### Epidermis

Die Epidermis bildet die äußerste Schicht, sie besteht zum größten Teil aus verhorntem Plattenepithel und ist gefäßlos. Diese äußere Schicht wird wiederum in fünf unterschiedlichen Schichten eingeteilt (von innen nach außen):

## Einleitung

Stratum basale (Basalzellschicht)

Stratum spinosum (Stachelzellschicht)

Stratum lucidum

Stratum corneum (Hornschicht).

Das Stratum basale besteht aus einer einfachen Schicht sich immer teilenden Zellen, die neu gebildeten Zellen wachsen nach Außen. In dieser Schicht befinden sich die Melanin produzierenden Melanozyten. Je höher der Melaningehalt in der Haut, desto dunkler erscheint sie. Das Melanin schützt die tiefer liegenden Hautpartien vor schädlicher UV-Strahlung.

Das Stratum spinosum ist charakterisiert durch pigmenthaltige Zellen, dessen stachelige Ausläufer ein stabiles Gerüst bilden und die Epidermis stützen. Diese Schicht ist 8-10 Reihen dick.

Die Körnerschicht, oder auch Stratum granulosum genannt, besteht aus flachen, keratohyalinhaltigen Zellen. Das Keratohyalin ist für die Hornbildung verantwortlich. In den histologischen Schnitten rezenter Hautgewebe ist diese Zone eindeutig am 3-5 Reihen schmalen, dunkelvioletten gefärbten Zellstreifen zu sehen.

Das Stratum lucidum ist mehrere Reihen dick, die transparenten, flachen Zellen dienen zum Schutz vor mechanischer Einwirkung. Diese Zellschicht kommt nur in den Zonen der Fußsohle und an der Handinnenseite vor.

Die oberste, verhornte Zellschicht, das Stratum corneum besteht aus flachen, mit Keratin eingelagerten Zellen, die Anzahl der Zellreihen liegt zwischen 25 und 30 Schichten. Diese äußerste Zellhülle bildet die Grenze zwischen Körper und Umwelt, sie wird permanent abgeschliffen, sie hat hydrophobe Eigenschaften [SCHMIDT (a), 2003].

### Dermis

Die Dermis besteht vor allem aus Bindegewebe, dadurch ist diese Schicht sehr reißfest und aber auch dehnbar. Man unterteilt zwei aufeinander folgende Schichten, das Stratum papillare und das Stratum retikulare.

Das Stratum papillare erkennt man an der lockeren Bindegewebsschicht mit elastischen Fasern, sie liegt unterhalb des Stratum basale der Epidermis. Die dermalen Papillen sind

## Einleitung

zapfenartige Ausstülpungen, in deren Arterien und Venen nach oben zur Epidermis durchlaufen.

Das Bindegewebe des Stratum reticulare ist fest und unregelmäßig strukturiert. Man findet kollagene und elastische Fasern, Arterien, Venen, Fettzellen, Haarfollikel, Nerven und Drüsen (Schweiß- und Talgdrüsen). Diese Schicht verleiht der Haut Stabilität und Elastizität [SCHMIDT (a), 2003].

### Subkutis

Diese Schicht dient als Verschiebeschicht zwischen dem oberen Teil der Haut, der Epidermis und Dermis und den unteren Muskelsträngen oder dem Periost (Knochenhaut). In der Subkutis kommen Schweißdrüsen, Haarwurzeln und die Vater-Pacini-Lamellenkörperchen vor. Diese Lamellenkörperchen dienen als Druck- und Vibrations-Tastsensor. Die eingelagerten Fettanhäufungen schützen vor Kälte, Stößen und sind als Energiespeicher nützlich [SCHMIDT (a), 2003].

### Epidermis:

a: Stratum corneum

b: Stratum granulosum

c: Stratum spinosum

d: Melanozyt

e: Stratum basale

### Dermis:

f: Stratum papillare

g: Ruffinisches TK

h: Stratum reticulare

i: Talgdrüsen

j: Schweißdrüsen

### Subkutis:

k: Fettzellen

l: Vater Pacinisches TK

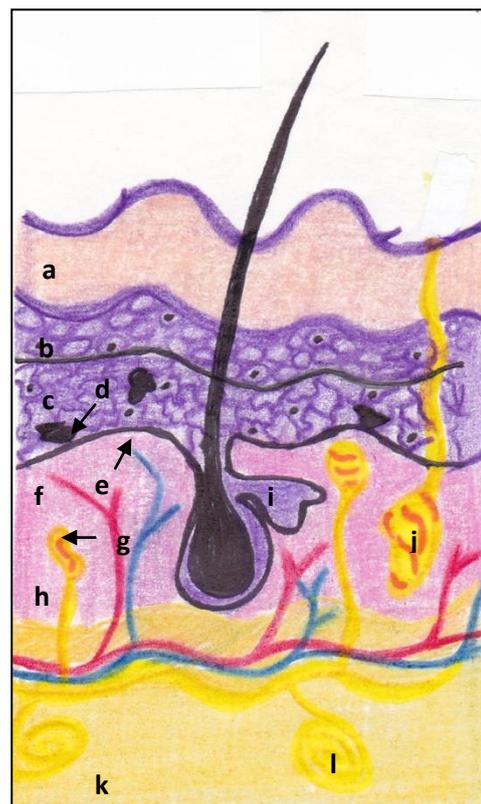


Abbildung 2: Aufbau der Haut

## Einleitung

### 1.4.3 Aufbau der Leber

Mikroskopisch gesehen besteht die Leber aus vielen Leberläppchen, mit einer speziellen Anordnung von Arterien, Venen und Gallengängen. Auf den histologischen Schnitten erkennt man die Läppchen an ihrer hexagonalen, bienenwabenähnlichen Form [HASEL und MENCHE (a), 2003].

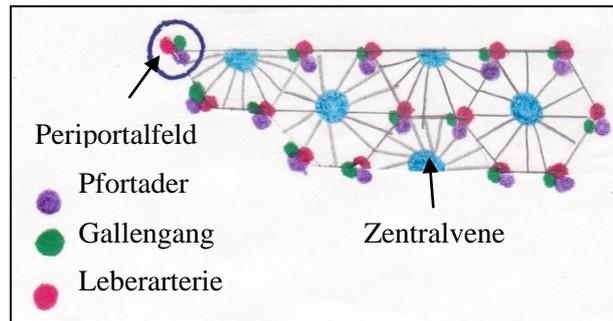


Abbildung 3: Aufbau eines Leberläppchens

Die radiär angeordneten Hepatozyten sind wie die Kapillaren zur Zentralvene gerichtet. Die Leberzellen haben eine kubische Form und ein charakteristisches eosinrotes, feinstrukturiertes Zellplasma. Intrazellulär liegt die Sinusoide, ein Kapillarnetz, welches das Pfortadernsystem mit den Ästen der Arteria hepatica propria (diese versorgt die Leber mit Blut) zusammenführt. Zwischen den Hepatozyten liegen dreieckige Strukturen, die Portalfelder, durch diese laufen die Gefäße der Arteria hepatica propria, der Pfortader Lymphe und Gallengänge. [THOMAS und DIENES, 2001].

### 1.4.4 Aufbau der Niere

Die Niere ist von einer Nierenkapsel umschlossen, sie besteht aus der Nierenrinde (Cortex renalis), dem Nierenmark (Medulla renalis), den Nierenbecken (Pelvis renalis) mit den Nierenkelchen, und den Blutgefäßen. Das Nephron besteht aus einem Nierenkörperchen (Corpuskulum renalis oder Glomerulus) und dem Tubulusapparat, diese bilden eine Funktionseinheit zur Filtrierung des Harnes. Solche Funktionseinheiten kommen in der Niere vielfach vor, wobei die Nierenkörperchen mit den Tubuli hauptsächlich in der Region der Nierenrinde und die Tubuli mit den Gefäßen im

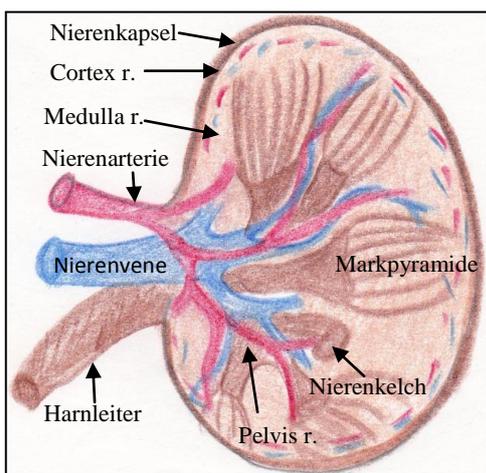


Abbildung 4: Aufbau der Niere

## Einleitung

Nierenmark liegen [HASEL und MENCHE (b), 2003].

### 1.4.5 Aufbau des Knochens

Der Knochen besteht aus kompaktem und spongiösem Gewebe, welches außen vom Periost (Bindegewebe) umschlossen ist. Das Endost hingegen ist kein Bindegewebe, es trennt die Kortikalis (Knochenrinde) von der Spongiosa (Schwammknochen). Die Knochenrinde nahe der Diaphyse der Röhrenknochen wird Kompakta bezeichnet, sie besteht, wie der Name schon verrät, aus dichtem Knochen. Der spongiöse, innere Bereich des Knochens ist durch Knochenbälkchen zur Stabilisierung gekennzeichnet. Im Periost verlaufen die nährenden Blutgefäße und Nerven. Es gibt zwei Knochenarten, den Geflechtknochen und den Lamellenknochen. Geflechtknochen wird der undifferenzierte Lamellenknochen genannt, er kommt bei Neugeborenen in der Wachstumsphase oder als Entwicklungsphase der Knochenerneuerung bei der Reparation vor. Die Knochenbälkchen sind schon ausgebildet, aber noch nicht

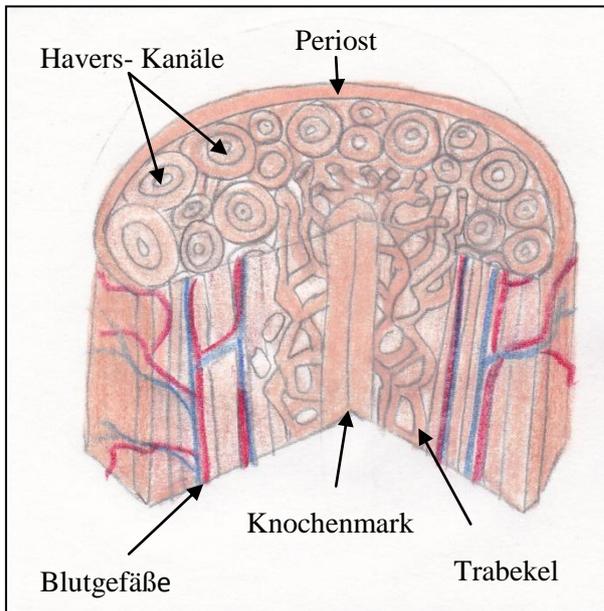


Abbildung 5: Aufbau des Knochens

ausgerichtet, da sich die Ausrichtung, dorthin entwickelt, wo ein bestimmter Zug oder Druck auf bestimmte Stellen des Knochens lastet. Der Lamellenknochen ist der ausgereifte Knochen, wie er zum Beispiel in der Kompakta zu finden ist. Um die längs verlaufenden Havers-Kanäle, in denen sich die nährenden Gefäße liegen, lagern sich konzentrisch mehrere bis zu 7  $\mu\text{m}$  dicke, feine Plättchen, die Lamellen. In den Zonen zwischen den Lamellen und innerhalb dieser befinden sich die Knochenhöhlen der

Osteozyten, welche über 1  $\mu\text{m}$  breite Canaliculi miteinander kommunizieren und für den Stoffwechsel sorgen [ADLER, 2001]. Man unterscheidet drei Arten von Knochenzellen, die Osteoplasten, die Osteozyten und die Osteoklasten. Die

## Einleitung

Osteoblasten sind am Aufbau des Knochens beteiligt, sie bilden eine Substanz aus Kollagen und Glycoproteinen, auch Osteoid genannt. Nach der Verkalkung der beiden Grundsubstanzen geben die Osteoblasten Kalziumphosphate und Kalziumkarbonate in den interstitiellen Raum ab. Diese beiden Salze sind schlecht löslich, deshalb kristallisieren sie an den kollagenen Fasern und umschließen die Osteoblasten. Durch diese Isolierung verlieren sie die mitotische Fähigkeit und bekommen einen neuen Namen, Osteozyten. Die Osteoklasten sind im Gegensatz zu den Osteoplasten und Osteozyten befähigt Knochen wieder aufzulösen, dies ist für die Wachstumsphase und für Reparaturen, z.B. bei Knochenbrüchen notwendig [ENGELHARDT, 2003].

### **1.5 Erhaltungszustand mumifizierter Gewebe aus der Literatur**

Welchen Erhaltungszustand kann man sich in Bezug auf diese Arbeit von mumifiziertem Gewebe erwarten? Erfahrungen aus vorangegangenen Studien sollen ein Bild über die zu erwartenden Strukturen liefern.

#### **1.5.1 Innere Organe**

Bis auf die Lunge, sind andere innere Organe bei spontan mumifizierten Mumien meist schlecht erhalten da sie nach dem Tod unmittelbar von lysosomalen Enzymen und Bakterien befallen werden [AUFDERHEIDE (b), 2003]. Bei ägyptischen Mumien hingegen wurden die inneren Organe entwendet, um dem raschen Abbau der Gewebe entgegen zu wirken.

Die Lunge eignet sich nicht zum Strukturnachweis, daher findet man in der Literatur spärliche Angaben zum Erhaltungszustand. Histologische Untersuchungen der Lunge dienen ausschließlich dem Nachweis von Pathologien. An ägyptischen Mumien konnten Staublungen (TAPP, 1986), Anthrakose, ein Lungenödem, ein Emphysem (Lungenaufblähung) und eine Lungenentzündung (WALKER et al., 1987) untersucht werden.

In dieser Studie sollen Proben einer Moormumie von Leber und Niere und eine Lungenprobe einer Trockenmumie Aufschluss über den Erhalt geben.

## Einleitung

### 1.5.2 Haut

Die Epidermis ist die äußerste Hautschicht, sie ist nach Eintreten des Todes sehr anfällig für Fäulnisbakterien, Tierfraß und Witterungseinflüssen. Aus diesem Grund ist die Epidermis sehr selten vollkommen intakt.

STÜCKER et al. (2001), CHANG et al. (2006) konnten keine, PABST et al. (2009), POST und DANIELS (1969), VERBOV (1986), SANDISON (1963), eine teilweise vorhandene Epidermis nachweisen. GIACOMETTI und CHIARELLI (1968) konnten eine vollständig erhaltene Epidermis diagnostizieren.

Bei Mumien konnten auch kollagenen Fasern diagnostiziert werden [BEREUTER et al., 1997], [STÜCKER et al., 2001], [GIACOMETTI und CHIARELLI, 1968], [CHANG et al., 2006], [POST und DANIELS, 1969], [VERBOV, 1983 und 1986], [SANDISON, 1963] und [HESS, 1998]-

Hautproben altägyptischer zeigten Erythrozyten und Leukozyten in den Blutgefäßen und sogar Zellkerne konnten identifiziert [VERBOV, 1996]. MASSA und CHIARELLI fanden in ägyptischen Mumien rote Blutkörperchen. Zelluläre Strukturen wurden jedoch sehr selten nachgewiesen.

Darüberhinaus konnten bei Mumien Haarfollikel [GIACOMETTI, CHIARELLI, 1968], [POST und DANIELS, 1969], Melaningranulae [PABST et al., 2009], [POST und DANIELS, 1969], [CHANG et al., 2006], Fettzellen und Schweißdrüsen [POST und DANIELS, 1969], [VERBOV, 1986] und Talgdrüsen [POST und DANIELS, 1969] diagnostiziert werden. Nervengewebe wurde in ägyptischen, aber auch an einigen anderen Mumien mikroskopisch untersucht [SANDISON, 1963], [HESS, 1998] und [MONSALVE et al., 2008].

### 1.5.3 Knochen

Die histologischen Untersuchungen der Mumienforschung sind auf Weichgewebe spezialisiert, nur in manchen Fällen werden Untersuchungen an Knochen vorgenommen. Da der Knochen aus einer kompakten Vernetzung der Knochenstruktur besteht, wird das Skelett nicht so schnell von Bakterien zersetzt wie das Weichgewebe

## Einleitung

frischer Leichen, deshalb sind Knochen bei allen Mumienformen erhalten. Erfahrungen aus der Literatur werden im Kapitel „Diskussion“ beschrieben.

### **1.6 Fragestellung und Ziel dieser Studie**

Ziel dieser Arbeit ist es, die bestmögliche Rehydrierungslösung für die jeweilige Mumifizierungsart zu finden und diese zu vergleichen. Dazu werden Gewebeproben einer Lunge und der Haut von spontan mumifizierten Geistlichen aus Sizilien (Piraino), Gewebeproben der Leber, Niere und eines Knochens einer Moorleiche und Hautproben von zwei Eismumien (eine davon ist natürlich und eine wurde künstlich mumifiziert) mit denselben Rehydrierungslösungen behandelt und untersucht. Die histologische Ausarbeitung der Hautproben soll einen Vergleich des Erhaltungszustandes auf mikrobiologischer Ebene zeigen, die Wirkung der Rehydrierungslösungen auf die verschiedenen Mumienarten und eventuelle pathologische Veränderungen des Zellverbandes sichtbar machen.

Die histologische Präparation wird aufgrund folgender Fragen im Detail untersucht:

1. Welchen Einfluss hat die Rehydrierung auf das Gewebe?
2. Welche Rehydrierung eignet sich für den jeweiligen Mumientyp?
3. Welche Strukturen bleiben erhalten?
4. Sind die aufbereiteten Gewebe mit denen frischer Proben vergleichbar? Welche Unterschiede zeigen sich?
5. Welche Pathologien können an Mumien diagnostiziert werden?

## 2 Material und Methoden

Im ersten Abschnitt werden die verwendeten Gewebeproben (Lunge, Haut, Leber, Niere, Knochen), ihre Herkunft und Geschichte und die verwendeten Materialien beschrieben. Im zweiten Teil wird die chemische Bearbeitung der Proben zur histologischen Untersuchung erklärt und in Tabellen vereinfacht dargestellt. Die Reihenfolge der Titel des zweiten Kapitels entspricht der Reihenfolge der Arbeitsschritte von der Rehydrierung bis zum Foto.

### 2.1 Übersicht aller Proben

Diese Tabelle soll alle in dieser Studie verwendeten Proben, deren Herkunft und Lagerung im Labor übersichtlich darstellen.

Mumientyp	Gewebetyp	Herkunft	Lagerung	ID- Nummer
Trockenmumie (Pir6)	Lunge	Piraino (Sizilien)	Raumtemperatur	42
Trockenmumie (Pir18)	Haut	Piraino (Sizilien)	Raumtemperatur	99
Natürliche Eismumie	Haut	Pejo (Dolomiten)	Temp.: -6°C Luftfeuchte: ca. 90%	206
Künstliche Eismumie (Ötzi3)	Haut		Temp.: -6°C Luftfeuchte: ca. 90%	214
Moormumie	Leber, Niere, Knochen	Zweeloo (Drenthe/ Niederlande)	Raumtemperatur	325, 326, 323

Tabelle 1: Übersicht aller Proben

## 2.2 Herkunft und Geschichte der Proben

### 2.2.1 Mumien aus Piraino

Im Norden Siziliens liegt das kleine Dorf Piraino, 87km westlich von Messina auf 406 Metern Meereshöhe. 1585 wurde die Kathedrale (Chiesa Madre) von Piraino fertig gestellt, sie beherbergt die so genannte “Grabstätte der Priester“. Zwischen 1773 und 1858 wurden die Priester in dieser Gruft bestattet und konnten ohne anthropogene Einwirkungen mumifizieren. Die Verstorbenen wurden zum Trocken in so genannte “colatoi, scolatoi oder colatori“ gelegt. Diese “colatoi“ waren so konstruiert, dass die Körperflüssigkeiten nach unten durch eine Öffnung abfließen konnten. Weitere Möglichkeit den Körper auszutrocknen boten Nischen in den Wänden in denen die Leichen hinein gesessen wurden und die Körpersäfte nach unten ablaufen konnten oder Holzkonstrukte, auf denen die Körper horizontal abgelegt wurden. Heute findet man 26 Individuen, wobei eines komplett skelettiert ist [PIOMBINO-MASCALI, MALLEGGNI, 2008]. Aus dieser Sammlung von mumifizierten Geistlichen wurde Lungengewebe und Hautgewebe zu Verfügung gestellt. Um die Arbeitsschritte zu perfektionieren und eine engere Auswahl von Rehydrierungslösungen zu finden, wurde die Arbeit mit reichlich vorhandenem Lungengewebe eines Priesters aus Piraino initiiert.



Abbildung 6: Mumien aus Piraino

### 2.2.2 Natürliche Eismumie

Diese Eismumie wurde in der Gemeinde Pejo in den Dolomiten gefunden. Sie stammt aus dem 20Jh.. Natürliche Eismumien entstehen durch Gefriertrocknung, die Kälte verlangsamt den Zerfall, während das Gewebe austrocknet [uni-Protokolle.de]. Die Hautprobe des linken Oberschenkels wurde vom Archäologie Museum zur Verfügung gestellt.

### 2.2.3 Ötzi 3

Hierbei handelt es sich um einen Leichnam eines Menschen, welcher sich zu Lebzeiten dem Institut für Anatomie, Forschung und Lehre verschrieben hat. Im Auftrag des Denkmalamtes und des Landesrates in Bozen wurde Dr. Othmar Garber als zuständiger Anatom für Lagerung und Konservierung für den "Mann im Eis" beauftragt diesen Körper künstlich zu mumifizieren, um eine Vergleichsmumie zum "Mann aus dem Eis" zu haben. Hauptgrund eine solche Mumie zu schaffen war es, den Wasserverlust des "Mannes vom Hauslabjoch" zu unterbinden. Zur Konservierung wurde über die Arteria femoralis Phenolum liquifactum und Formaldehyd infiltriert. Diese Mischung tötet Mikroorganismen sowohl innerhalb, als auch außerhalb des Körpers und verhindert den normalerweise eintretenden Fäulnisprozess. Anschließend wurde die Leiche monatelang bei -6°C und einer Luftfeuchtigkeit von 98-100% in einer Kühlzelle mit Ventilator frei gelagert. Bei einem Körperwasserverlust von 50% wurde der Leichnam mehrfach computertomographisch untersucht, um die Veränderungen, welche durch das Schrumpfen des Gewebes verursacht werden, zu protokollieren. Gewebeproben für die Histologie und für chemische Untersuchungen wurden genommen. Anschließend wurde die Mumie nach Meran überstellt um einen Kühlzellenprototypen zu testen. Dabei musste auch ein Wasserverlust der Testmumie um 2 bis 3 Gramm festgestellt werden. Um einen weiteren Flüssigkeitsverlust zu verhindern versuchte man den Körper mit Wasser zu bespritzen. Tatsächlich konnte so eine weitere Austrocknung der Weichteile verhindert werden. Dieses Ergebnis war ausschlaggebend für den Startschuss der Ausstellung des Mannes im Eis [GARBER, PERSÖNLICHE MITTEILUNG]. Das

## Material und Methoden

Archäologie Museum hat mehrere Hautproben zu Untersuchungszwecken freigegeben. Für diese Studie wurde eine Hautprobe des linken Unterschenkels bearbeitet.

### **2.2.4 Zweeloo Frau**

Die Moorleiche einer erwachsenen Frau wurde per Zufall 1951 im Dezember beim Moorabbau in den Niederlanden, in der Provinz Drenthe, nordwestlich vom Dorf Zweeloo geborgen. Datiert wurde dieser Fund auf 78-223 n. Chr., sie lebte zur Zeit der Römer. Der Körper wurde durch den Torfabbau massiv zerstört, so konnten die Knochen, die Haut und die Eingeweide nur einzeln geborgen werden. Verschiedene Untersuchungen, wie Staturmessungen und PET-CT Scan wurden gemacht, ein Rasterkraftmikroskop (AFM) und histologische Untersuchungen sollten Aufschluss über den Erhaltungszustand des Körpers geben [BIANUCCI R. et. al., 2012]. Gewebeproben einer Niere, Leber und eines Knochens wurden in dieser Studie untersucht.

### **2.2.5 Rezente Proben**

Zur Evaluierung der histologischen Ergebnisse antiker Proben eignen sich zum Vergleich rezente Proben. Diese rezenten Schnitte zeigen das Spektrum der möglich sichtbaren Strukturen und dienen so der Referenz. Für diese Studie wurden frische Biopsien einer Haut, Lunge, Niere, Leber und eines Knochens präpariert. Diese Proben wurden in Form von fertigen, gefärbten (HE-Färbung) Objektträgern von der Abteilung für Anatomie und Histologie des Sanitätsbetriebes der Autonomen Provinz Bozen zur Verfügung gestellt.

## 2.3 Geräte

Geräte	Hersteller
Fotoapparat: Nikon DSFi1	Nikon
Mikroskop: Nikon Eclipse E600	Nikon
Mikrotom: HM 200	Mikrotom GmbH, 69190 Walldorf, Germany
Ofen: Combi-H12 Hybridization	Fine PCR, Korea
Orbitalschüttler: KS-15 Control	Edmund Bühler GmbH
Wasserbad: Dako Cytomation	I.S.C.O SrL “The Scientific Manufacturer”
Water Purification System ( Direct -Q5)	Millipore
Warmhalter: Liebisch Type: 2080	Gebr. Liebisch, Bielefeld

Tabelle 2: Geräte

## 2.4 Chemikalien

Chemikalien	Hersteller	Artikel Nummer
Acqua dest.	Millipore (Eigenherstellung mit dem Water Purification System)	Keine Nummer
Brij® 35	Roth	CN21.3
Buffer (pH6.8)	Roth	P713.2
Dinatriumborat	Vom Spital zur Verfügung gestellt bekommen	
EDTA	Roth	8040.2
Eosin-G Lösung	Roth	
Eisessig	Roth	3738.5
Ethanol, ACS, absolut	SIGMA-ALDRICH	2860
Ethanol 96 % denaturiert	ROTH	T171.4
Formaldehyde 37 %	ROTH	CP10.2

## Material und Methoden

Giemsa Stock Lösung	ROTH	T862.1
Goldchlorid	Vom Spital zur Verfügung gestellt bekommen	Keine Angabe
Gram Färbe Set and Reagenzien	Becton, Dickinson and Company	212539
Hämalaunlösung sauer nach Mayer	Roth	T865.2
Hexamethylentetramin	Vom Spital zur Verfügung gestellt bekommen	Keine Angabe
Immersionsöl für die Mikroskopie, fluoreszenzgetestet	Roth	X899.2
Lenor Weichspüler "Sensitiv" Mandelmilch	Procter & Gamble GmbH	Keine Angabe
Natriumthiosulfat	Roth	P034.1
Paraplast ® Plus (Paraffin)	Roth	X881.1
Perjodsäure	Roth	HP00.1
Roti HistokitII (=Eindeckbalsam)	Roth	T160.1
D(+)-Saccharose	Roth	4621.1
Sodiumcarbonat	Roth	A135.2
Silbernitrat	Roth	7908.1
Xylol	Roth	9713.3

**Tabelle 3: Chemikalien**

## 2.5 Laborzubehör

<b>Laborzubehör</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Artikel Nummer</b>
Deckgläser	Roth	1871.1
Einbettkassetten	Kaltek	K113.1
Eppendorf Gefäß	Roth	7080.1

## Material und Methoden

(Multisicherheitsreaktionsgefäß 1,5 ml		
Färbekasten nach Hallendahl	Roth	H550.1
Färbeschale- und Einsatz	Roth	2290.2 2291.2
Falkon Röhrchen 500ml (Rotilabo®- Centrifuge Tubes)	Roth	N463.1
Hautstanzenentnehmer	Stiefel	Keine Angabe
Einbettgeschälchen (div. Größen): Base Mold	Kaltek	Keine Angabe
Objektträger: Superfrost®/Plus	Roth	H867.1
Rotilabo®- Färbekammer: Deckelmaterial: ABS schwarz PETG transparent	Roth	HL98.1 HL 97.1

**Tabelle 4: Laborzubehör**

## 2.6 Softwares

<b>Program</b>	<b>Software</b>
Bilddokumentationssoftware	NIS-Elements F3.0
Konvertier Program (Test Version)	Advanced Batch Converter 5.0
Microsoft Word	Microsoft Office Word 2007

**Tabelle 5: Softwares**

## 2.7 Allgemeine Einführung zu den Methoden

Die Histologie dient dazu, Gewebestrukturen von frischem Gewebe, aber auch von mumifizierten Geweben zu untersuchen. Diese Methode ermöglicht es Gewebstrukturen und deren möglichen pathogenen Veränderungen aber auch verschiedene infektiöse Pathogene wie Viren, Bakterien, Parasiten oder Pilze in

## Material und Methoden

Gewebe zu diagnostizieren [KRANKENHAUSPROTOKOLL DER AUTONOMEN PROVINZ BOZEN-SÜDTIROL, 2003, SIEHE ANHANG].

Um histologische Schnitte von mumifizierten Zellstrukturen machen zu können, müssen die schon sehr trockenen, harten und oft brüchigen Gewebe mit einer Reihe von Chemikalien behandelt werden. Der erste Schritt ist die Rehydrierung. Dabei werden die eingetrockneten, feinen Poren und Gefäße für die darauf folgenden chemischen Behandlungen gängig gemacht. Durch die Rehydrierung wird das Gewebe aufgeschwemmt und gewinnt so an Volumen. Bei frischem Gewebe ist eine Rehydrierung der zu untersuchenden Gewebe nicht nötig, da sie noch mit Blut und Körperflüssigkeiten befeuchtet und die Hohlräume der vernetzten Struktur noch gut erhalten sind. Bei frischem Gewebe kann also gleich mit der Dehydrierung begonnen werden. Nach der Rehydrierung werden die Gewebe fixiert, dabei ist zu erwähnen, dass es unterschiedliche Fixierungsmöglichkeiten gibt. Je nach Gewebe wird eine ideale Lösung zur Bearbeitung gewählt. Für die Gewebe dieser Untersuchung eignet sich die 4% ige Formaldehydlösung. Nach dem Fixieren werden die Gewebe in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert, um die Probe zu Entwässern. Da das Wasser mit dem Paraffin nicht emulgiert, würde ein homogenes Diffundieren des Paraffins in das Gewebe verhindern werden. Dieser Schritt garantiert die nötige Härte, Stabilität und somit eine gleich bleibende Qualität des zu schneidenden Präparats. Der fertige Wachsblock wird dann zum Schneiden in das Mikrotom eingespannt, die Schnitte werden auf den Objektträger aufgezogen, gefärbt und mit Eindeckbalsam eingedeckt. Ist der Balsam fest, so kann mit dem Mikroskopieren begonnen werden. Die Schnitte wurden mit einer Vergrößerung von 10, 40 und 100 fotografiert, konvertiert und archiviert.

## **2.8 Probenentnahme**

### **2.8.1 Lungengewebe und Hautgewebe aus Piraino**

Das Lungengewebe und die Hautprobe werden trocken bei Raumtemperatur gelagert, vor der Probenentnahme vom Kunststoffbeutel entnommen, gewogen, abgemessen und in der Database des Institutes "Mumien und den Iceman" der Eurac Bozen eingetragen.

## Material und Methoden

Von den beiden Geweben wurde mit Pinzette und Schere ein kleines quadratisches Stück abgetrennt. Die Proben wurden getrennt jeweils in einer Petrischale zwischengelagert, bevor sie in die Rehydrierungslösungen eingelegt wurden.

### **2.8.2 Hautgewebe der natürlichen Eismumie**

Das Südtiroler Archäologiemuseum Bozen stellte diese Hautprobe des linken Oberschenkels zur histologischen Untersuchung zur Verfügung. Diese Probe wurde im Museum abgeholt und in eine Styroporbox auf schnellstem Wege ins Labor gebracht und gleich in den Gefrierschrank bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert. Würden die Proben auftauen, so würde der Abbau und somit der Fäulnisprozess beginnen. Erst vor der unmittelbaren Weiterverarbeitung mit der Rehydrierungslösung wurde die Probe dem Gefrierschrank entnommen. Die Probe mass  $4 \times 4 \text{mm}$  und wog 8gr.

### **2.8.3 Hautgewebe der künstlichen Eismumie Ötzi3**

Auch diese Probe wurde vom Südtiroler Archäologie Museum Bozen zu Untersuchungszwecken freigegeben. Diese künstlich mumifizierte Eismumie liegt in einer aus Stahl gefertigten Kühlzelle bei  $-6^{\circ}\text{C}$  und einer Luftfeuchtigkeit von ca. 90%. Die Probeentnahme erfolgte unter Aufsicht von Marco Samadelli (Konservierungsexperte von Ötzi), mehrere Hautproben wurden mittels einer Stanze an Brust (dex.), Fußsohle (sin.), Rücken, Unterarm (sin.) Bauch (dex.) und am Oberschenkel (sin.) entnommen. Der Transport ins Labor erfolgte gekühlt und mittels einer Styroporbox, um die Proben so gut wie möglich bei gleicher Temperatur und den Konservierungszustand zu halten. Dort wurden die Proben bis zur Weiterverarbeitung im Gefrierschrank gelagert. Die Probe hatte eine Größe von  $5 \times 5 \text{mm}$  und wog 0,04gr.

### **2.8.4 Gewebe der Moormumie**

Für diese Studie wurden Biopsien einer Niere, einer Leber und eines Knochens untersucht. Alle Proben der Moormumie wurden während einer Wanderausstellung über

## Material und Methoden

Mumien mit dem Titel „Mumien, der Traum vom ewigen Leben“ entnommen. Von Leber und Niere wurden Gewebstücke von 5x5mm mit Pinzette und Schere entnommen. Der Knochen wurde nach dem Protokoll von Maat et al. [MAAT und AARNENTS, 2000] untersucht. Dazu wurde ein relativ dünner Abschnitt des Knochens auf den Objektträger geklebt und mit Sandpapier abgeschmirgelt (mit absteigender Körnung des Sandpapiers). Der Knochenschnitt sollte so dünn werden, dass man hindurch sehen kann. Der Knochen wurde nicht wie alle anderen Proben mit Eindeckbalsam eingedeckt. Die Proben wurden bei Raumtemperatur gelagert.

## 2.9 Rehydrierungsmethoden

### 2.9.1 Allgemein

Um die optimalen Parameter zu finden und eine engere Auswahl der Rehydrierungsmethoden zu erreichen, schien es sinnvoll, zuerst sieben unterschiedliche Lösungen am Lungengewebe aus Piraino zu testen, da bei dieser Probe ausreichend Material zur Verfügung stand und somit nicht das Material aller Gewebeproben verbraucht werden musste. Die Gewebe müssen je nach Härte, Dichte und Dicke des Materials unterschiedlich lange in der Rehydrierungslösung liegen bleiben [MEKOTA und VERMEHREN 2004]. In der Regel gilt, je größer die Probe, desto länger bleibt diese in der Lösung.

In der Tabelle 6 „Rehydrierungslösungen“ sind jene Rehydrierungslösungen aufgelistet, welche in dieser Studie Verwendung finden.

<b>Methode</b>	<b>Reagenzien</b>	<b>Menge in Prozent</b>	<b>Für 100ml Gesamtmenge</b>	<b>Referenz</b>
Ruffer I (1921b)	Wasser Absoluter Ethanol 5% Natriumcarbonat	50% 30% 20%	50ml 30ml 20ml	[RUFFER, 1921]
Ruffer II	Leitungswasser	97%	97ml	[RUFFER, 1921]

## Material und Methoden

(1921)	5% Natriumcarbonat 4% Formaldehyd	2% 1%	2ml 1ml	
Wiest et al. (1994)	2% Formaldehyd Brij® Lösung	95% 5%	95ml 5ml	[WIEST et al., 1994]
Sandison (1955b)	Wässriges Formaldehyd (1%) Ethanol (96%) Wässriges Natriumcarbonat (5%)	50% 30% 20%	50ml 30ml 20ml	[SANDISON, 1955]
Solution II	Destilliertes Wasser 15% Saccharose Lösung 2% Natriumcarbonat	50% 30% 20%	50ml 30ml 20ml	[MEKOTA, 2002]
Solution III	0,2% "Comfort" Weichspüler (Lever Bros.) In 5% Natriumcarbonat 4% Formaldehyd (wässrig)	80% 20%	80ml 20ml	[MEKOTA, 2002]
Zimmermann (1972)	Zuerst rehydrieren wie Ruffer I Anschließend: Jeden Tag 1/3 vom Volumen mit Absolutem Ethyl Alkohol ersetzen	Siehe RufferI	Siehe RufferI	[AUFDERHEIDE, 2004]
Glycerin 4%	Glycerin 4%	50%	50ml	[MAIXNER in

## Material und Methoden

Formaldehyd	Formaldehyd	50%	50ml	preparation]
-------------	-------------	-----	------	--------------

Tabelle 6: Rehydrierungslösungen

Anmerkung zur Tabelle:

Zu Solution III: Der "Comfort" Weichspüler (Lever Bros.) wurde durch den bei uns im Handel erhältlichen Lenor Weichspüler "Sensitiv" Mandelmilch ersetzt.

### 2.9.2 Arbeitsschritte für die Rehydrierung

Für jede der sieben oben genannten Lösungen werden 100ml Gesamtlösung vorbereitet. Jede Probe kommt separat in ein Falcon Röhrchen mit je 100ml Rehydrierungslösung und wird für 48h auf dem Orbitalrüttler geschüttelt.

## 2.10 Fixierung

### 2.10.1 Allgemein

Durch die Rehydrierung sind die Gewebe wieder dem postmortalen Zerfall ausgeliefert, deshalb werden nach der Rehydrierung die Gewebstücke 24-48 Stunden in 4%igem Formalin fixiert. Die Fixierung soll den Abbau bzw. Umbau der sich in der Zelle befindlichen Stoffe verhindern [BURCK, 1969].

Die Fixierung ist ein wichtiger Schritt in der Vorbereitung histologischer Schnitte, denn sie hat die Aufgabe die Struktur des Gewebes so natürlich wie möglich zu halten, die Form und Größe soll möglichst unverändert bleiben. Auch soll weder die Färbbarkeit, die Eigenschaften von Molekülen, noch die Tätigkeit der Enzyme beeinflusst werden, sie soll das Gewebe härten, sodass es leicht schneidbar ist, das biologische Material soll nicht weich werden, noch soll es brechen. Es gibt jedoch keine Fixierung, welche alle oben genannten Fähigkeiten in einer Lösung vereint. Dies ist aber für lichtmikroskopische Untersuchungen auch nicht nötig, man sollte sich vor der Aufbereitung Gedanken machen, was man genau untersuchen möchte und wählt dann die passende Lösung. In den Standardwerken der Histologischen Technik, wie zum Beispiel den „Romeis“, findet man Listen mit den gebräuchlichsten Fixierungen, wobei

## Material und Methoden

der Name, die Zusammensetzung, die Anwendung und die Eignung eingetragen sind [MULISCH und WELSCH (a), 2010].

Für diese Studie sollen die Präparate zur Übersicht des Gewebes dienen, um die Strukturen und die Feinstrukturierung der unterschiedlichen Proben darzustellen. Für diese so genannten Übersichtspräparate eignen sich die Formalin-, die Bouin-, die Zenker- und die Schaffer Lösung, die Formalin Lösung wird jedoch als beste Fixierung empfohlen [MULISCH und WELSCH (a), 2010]. Aus diesem Grund wurde bei allen Proben die 4%ige Formaldehydlösung für diesen Untersuchungszweck gewählt.

Noch ist zu erwähnen, dass Formalin eine 30-40%ige Lösung von Formaldehyd ist [MULISCH und WELSCH (a), 2010]

### **2.10.2 Arbeitsschritte für die Fixierung**

Alle Proben kommen von der Rehydrierungsflüssigkeit zum Fixieren einzeln in ein mit 4%igem Formaldehyd gefülltes Falcon Röhrchen (Volumen: 500ml) und werden dann für 24h auf dem Orbitalrüttler bei 140 Umdrehungen/min. geschwenkt.

## **2.11 Dehydrierung**

### **2.11.1 Allgemein**

Dieser weitere Prozess verläuft nun wie beim frischen Gewebe in der Histopathologie der Krankenhäuser. Dort werden über Nacht die Einbettkassetten mit den Geweben in den Prozessor gestellt. Im Prozessor werden die Proben mit einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert, in Xylol getaucht und mit Paraffin gefüllt. Das Xylol schafft eine Brücke, bzw. eine Verbindung zwischen Alkohol und Paraffin. Am Morgen werden die Einbettkassetten entnommen und in Paraffin eingebettet. Im DNA Labor des Institutes "Mumien und den Iceman" der Eurac Bozen stand kein Prozessor zur Verfügung, deshalb wurden die Arbeitsschritte per Hand ausgeführt. Dies hat den Vorteil, da man die einzelnen Schritte modifizieren kann und die Arbeitsschritte den Bedürfnissen anpassen kann.

### 2.11.2 Arbeitsschritte zur Dehydrierung

Die Gewebe werden nach der Fixierung dehydriert, d.h. jede Probe kommt einzeln in eine beschriftete Einbettkassette und wird in der aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert und anschließend in Xylol getaucht.

Reagenz	Prozentsatz	Zeit in Minuten
Alkohol	70	60
Alkohol	80	60
Alkohol	96	120
Alkohol	100 (vergällt)	120
Xylol		45
Xylol		60
Xylol		90

Tabelle 7: Arbeitsschritte zur Dehydrierung

## 2.12 Einbettung

### 2.12.1 Allgemein

Die Gewebstücke werden vor dem Einbetten in 56°C warmes Paraffin gelegt, dass das Paraffin in das Gewebe langsam eindringen kann. Die Blöcke sollten nach dem Einbetten, bis es fest ist und vor dem Schneiden auf Eis gelagert bleiben. Die Blöcke können bei Zimmertemperatur gelagert werden.

### 2.12.2 Arbeitsschritte für die Einbettung

Das Wasserbad erwärmen, sodass das Paraffin flüssig wird und eine konstante Temperatur von 56°C hat. Die Proben aus dem Xylol nehmen und auf einem Stück Papier kurz abtropfen lassen, dass das erste Paraffinbad nicht zuviel Xylol beinhaltet. Dann werden die Kassetten in 2 mal für 30 min. in 56°C warmes Paraffin eingelegt Die

## Material und Methoden

Metallbehälter vorwärmen, ein wenig flüssiges Paraffin hineinfließen lassen, die Probe mit der Pinzette zentriert sachte auf den Boden des Metallbehälters halten, auf einem Eisblock kurz aneisen, flüssiges Paraffin drauf, Einbettkassette drauflegen und wenn nötig noch ein wenig Paraffin einfließen lassen, dass das Gitter der Einbettkassette vollständig bedeckt ist. Anschließend vorsichtig auf den Eisblock stellen, dass das Paraffin erkalten und härten kann.

Anmerkungen:

Die Kassetten werden nach einer halben Stunde in ein neues Paraffinbad gelegt, da das erste Bad mit Xylol verunreinigt wurde.

Bei den Hautbiopsien „Ötzi 3 (Wiest und NEG)“ und „Natürliche Eismumie (Sandison)“ wurde die Einwirkzeit des Paraffins von 1 Stunde auf 3 Stunden erhöht, da sich das Material beim ersten Schneidversuch nicht gut im Block verbunden hat.

In der modernen Histopathologie kommen die Gewebe für längere Zeit in 4 aufeinander folgenden Paraffinbädern, zuerst für 30min., dann für 45min. und in die letzten zwei für je eine Stunde.

### 2.12.3 Reduzierung der Dehydrierungszeiten

Bei der Hautprobe aus Piraino mit der Glycerin/ Formaldehyd Lösung wurde ein Versuch gestartet, die Dehydrierungszeiten von insgesamt 9,25h, also 9h und 15min. auf 29,5 min. zu reduzieren.

Reagenz	Prozentsatz	Zeit in Minuten
Alkohol	70	2
Alkohol	80	2
Alkohol	96	5
Alkohol	100 (vergällt)	5
Xylol		0.5
Xylol		15

Tabelle 8: Reduzierung der Dehydrierungszeiten

### 2.13 Schnitte

#### 2.13.1 Allgemein

Ist der Wachs vollständig ausgehärtet, löst man die in Wachs eingebettete Einbettkassette mit der Probe vom Metallbehälter und schabt die überstehenden Wachsreste mit einem Spatel vom Rand der Einbettkassette. Das erleichtert später das Einspannen der Kassette in das Mikrotom. Die Wachsblöcke kommen vor dem Schneiden für 10-15 min. auf einen Eisblock, da sich das Wachs gekühlt besser schneiden lässt. Sie werden dann ins Mikrotom eingespannt, bis zur Präparationsoberfläche getrimmt und bei 15-20 $\mu$ m grob vor geschnitten, bis das eingebettete Präparat gleichmäßig sichtbar wird. Dann wird das Mikrotom auf eine Dicke von 3  $\mu$ m (zwischen 3 und 6 $\mu$ m) getrimmt und der Block geschnitten. Je 2 bis 3 zusammenhängende Schnitte werden am Wachsrand mit der angefeuchteten Pinselspitze vorsichtig gefasst und ins 45°C warme Wasser zum Strecken gelegt. Die Objektträger (Firma: Roth: Super Frost/Kanten geschliffen, 90°) werden dann schräg ins 45°C warme Wasserbad unter das schwimmende Präparat gehalten bis es leicht anhaftet und dann zügig nach oben gezogen. Es können maximal 3 Präparate auf einem Objektträger aufgezogen werden. Die Objektträger werden nun bei 59°C für eine halbe Stunde getrocknet, erst dann kann mit dem Entparaffinieren begonnen werden.

#### 2.13.2 Arbeitsschritte für die Schnittherstellung

- Wachsblöcke für 10-15min. auf das Eis legen
- einspannen in das Mikrotom
- auf 20 $\mu$ m trimmen und vor schneiden bis das Gewebe sichtbar ist
- auf 4 $\mu$ m trimmen zügig aber vorsichtig 2-3 mal schneiden
- mit dem Pinsel die Schnitte ins Wasserbad legen und strecken lassen
- Schnitte auf dem Objektträger aufziehen
- Schnitte in den Halter stellen und abtropfen lassen
- Im Ofen bei 59°C für 30min. trocknen

## 2.14 Entparaffinieren

### 2.14.1 Allgemein

Vor jeder Färbung wird das Paraffin mit Xylol restlos vom Schnitt entfernt, dann folgt eine absteigende Alkoholreihe, beginnend bei 100%, um die Schnitte langsam zu wässern. Mehrere Objektträger kommen dazu aneinandergereiht in ein Körbchen. Um eine Beschädigung des Gewebes zu vermeiden sollten sie sich nicht berühren. Das beladene Körbchen wird in bestimmten Zeitabständen (siehe Tabelle: 9) von einer Schale in die Nächste getaucht. Vor dem Eintauchen in das nächststehende Gefäß, das Körbchen etwas abtropfen lassen, um die Verunreinigung niedrig zu halten. In den Färbeschalen befinden sich die unten angeführten Reagenzien, welche in der Reihenfolge der Arbeitsschritte nebeneinander aufgestellt werden. Auf jeder Schale verhindert ein Deckel das Verdunsten der flüchtigen Stoffe. Die Reagenzien können für mehrere Arbeitsgänge genutzt werden, jedoch besteht die Gefahr der zunehmenden Verunreinigung.

Reagenzien	Zeit
▪ Xylol	3min.
▪ Xylol	3min.
▪ Xylol	3min.
▪ Alkohol 100% (vergällt)	1min.
▪ Alkohol 100% (vergällt)	1min.
▪ Alkohol 96%	1min.
▪ Alkohol 80%	1min.
▪ Alkohol 70%	2min.
▪ AD	2min.

Tabelle 9: Arbeitsschritte zur Entparaffinierung

### **2.15 Färben**

#### **2.15.1 Allgemein**

Im Laufe der letzten 120 Jahren haben sich einige Färbemethoden durchgesetzt. Die Auswahl der Färbung hängt davon ab, was man im Gewebe untersuchen möchte. Die Hämatoxylin-Eosin (H-E) Färbung gilt als Standardfärbung in der Histologie. Sie liefert einen Überblick über die Struktur des Gewebes, dabei wird eine Unterscheidung der zu untersuchenden Strukturen in normal, entzündlich oder degenerativ verändert oder pathologisch ermöglicht. Weitere Färbungen wie die PAS (Perjodsäure-Schiff-Reaktion), Grocott, Giemsa, Gram finden in dieser Studie Anwendung, sie werden weiter unten genau erklärt und die Arbeitsschritte werden in Tabellen vereinfacht dargestellt.

Die Färbemethoden unterscheiden sich nicht von den Routine-Verfahren in den Krankenhäusern. Nach dem Färben werden alle Proben luftdicht mit einem Tropfen Roti®-HistokittII beträufelt und mit einem Deckblatt eingedeckt.

#### **2.15.2 Hämatoxylin-Eosin Färbung**

Die HE- Färbung ist die meist verbreitete Standardfärbung in der Histologie. Sie besteht aus dem Naturfarbstoff Hämatoxylin und Eosin. Das Hämatoxylin ist nicht der eigentliche Farbstoff, sondern sein Oxidationsprodukt, das Hämatein, welches durch Reifung entsteht. Die Reifung kann natürlich in einigen Wochen durch Luftsauerstoff passieren oder künstlich durch Oxidantien sofort hergestellt werden. Als Oxidantien sind Natriumjodat oder Kaliumjodat bekannt. Diese Färbung liefert einen Überblick über die Struktur des Gewebes und macht deren Erhaltungszustand sichtbar [MULISCH und WELSCH (c), 2010].

Es werden saure Moleküle im Schnitt angefärbt. dabei werden Kerne (Chromatin u. a. auch DNA), saure Schleimsubstanzen, Bakterien, ER (u. a. RNA), Kalk blau gefärbt. Zytoplasma (meiste Protein b), Intrazellulärsubstanz, Kollagen, basische Strukturen und proteinhaltige Lösungen werden nuanciert rot-rosa gefärbt [TURZYNSKI, 2001-2011]. Für die H-E Färbung kann das Hämatoxylin und Eosin selbst hergestellt oder als

## Material und Methoden

Fertigprodukt gekauft werden. Für diese Studie kam das Fertigprodukt "Hämalaunlösung sauer nach Mayer" zum Einsatz.

Sind die Objektträger entparaffiniert, so kann mit dem Färben begonnen werden. Für die Färbung befüllt man zwei Färbekasten nach Hallendahl, eine mit der Hämalaunlösung und eine mit der Eosin Lösung. Beide Lösungen können für mehrere Färbungen genutzt und mit Deckel bei Zimmertemperatur gelagert werden. Die entparaffinierten Objektträger werden zum Färben aus dem Körbchen in die Färbekasten nach Hallendahl gestellt und wie in der unten angeführten Tabelle (Arbeitsschritte der H-E Färbung) behandelt. Für das Spülen mit AD, mit der Alkoholreihe und mit dem Xylol kommen die Gläschen immer in das Körbchen. Spült man die Objektträger unter fließendem Wasser, so stellt man die Färbekasten mit den Objektträgern in das Waschbecken und lässt den Wasserstrahl am Glasrand 15min. einfließen.

Reagenzien	Zeit in Minuten
▪ Schnitte entparaffinieren und in AD geben (siehe Arbeitsschritte der Entparaffinierung)	18
▪ Hämalaunlösung sauer nach Mayer	5
▪ AD	1
▪ Fließendes Wasser	15
▪ AD	2
▪ Eosin-G Lösung (+ 1 Tropfen Eisessig/100ml Lösung)	3
▪ Kurz mit Leitungswasser spülen	Kurz
▪ Alkohol 70%	0,3 (~20sec)
▪ Alkohol 96%	0,3 (~20sec.)
▪ Alkohol 96%	0,3 (~20sec.)
▪ Alkohol 100%	1
▪ Alkohol 100%	1
▪ Xylol	1

## Material und Methoden

▪ Xylol	2
▪ Xylol	2
▪ Eindecken mit Roti-HistokitII	

Tabelle 10: Arbeitsschritte der HE-Färbung [Modifiziert nach dem Krankenhausprotokoll der Autonomen Provinz Bozen-Südtirol, 2003, siehe Anhang]

### 2.15.3 PAS Färbung (Perjodsäure-Schiff-Reaktion)

Mit dieser Färbung können Tumore beurteilt werden, Pilze, seltene Erreger, diffuse siegelringzellige Karzinome und Glycogenspeicherkrankheiten dargestellt werden. Durch die Oxidation von 1,2-Glykolen mit der Perjodsäure können durch die PAS Reaktion die Aldehydgruppen nachgewiesen werden [BÖCK, 1989]. Zucker und Stärke werden zuvor auf gespalten, dass nur die Glycoproteine gefärbt werden.

Rot Färbung von:

- Glycogenhaltige Zellbestandteile
- Glykoproteine,
- Glykolipide,
- Mukoproteine
- Neutrale Mukopolysaccharide
- Ungesättigte Fette
- Phospholipide
- Retikuläre und kollagene Bindegewebsfasern
- Muzin der Becherzelle im GIT
- Bürstenbesatz der Nierenkanälchen [KRANKENHAUSPROTOKOLL DER AUTONOMEN PROVINZ BOZEN-SÜDTIROL, 2003, SIEHE ANHANG]

Reagenzien:

- Rejodsäure 0,5%
- AD
- Schiff'sches Reagens
- Hämalanlösung sauer nach Mayer [Autonome Provinz Bozen-Südtirol, 2003]

## Material und Methoden

### Zubereitungen der Lösungen:

1. Perjodsäure 0,5%: 2,5 g Perjodsäure ( $H_5IO_6$ ) mit AD auf 500ml auffüllen.
2. Schiff'sches Reagens: im Handel schon als gebrauchsfertige Lösung (Aufbewahrung im Kühlschrank)

#### ODER EIGENHERSTELLUNG:

Lösung A: 0,5 g Pararosanilin in 15 ml HCL 1N lösen (1 ml 37%ige HCL # 9 ml AD)

Lösung B: 0,5 g Natriumbisulfat ( $Na_2S_2O_5$ ) in 85 ml AD lösen.

3. Die Lösungen A+B einrühren und 24 Stunden stehen lassen.
4. 0,3 g Aktivkohle dazugeben, gut mischen und filtrieren.
5. Die Lösung ist Anfangs leicht rosa, wird dann aber glasklar.
6. Immer im Kühlschrank aufbewahren!!! [KRANKENHAUSPROTOKOLL DER AUTONOMEN PROVINZ BOZEN-SÜDTIROL, 2003, SIEHE ANHANG] Für diese Studie wurde das gebrauchsfertige Schiff'sche Reagens gewählt.

Reagenzien	Zeit in Minuten
1. Schnitte entparaffinieren und in AD geben (siehe Arbeitsschritte der Entparaffinierung)	18
2. In Perjodsäure 0,5 % die Schnitte einstellen	10
3. AD spülen	2
4. AD spülen	2
5. In Schiff'sches Reagens die Schnitte einstellen	30
6. Lauwarm wässern	10
7. In Hämalanlösung sauer nach Mayer die Schnitte einstellen	1
8. Lauwarm wässern	10
9. Entwässern in Alkohol 70%	1
10. Alkohol 96%	1
11. Alkohol 96%	1
12. Alkohol 100%	1
13. Alkohol 100%	1

## Material und Methoden

14. Xylol	1
15. Xylol	2
16. Xylol	2
17. In Roti®-istokittII (= Eindeckbalsam) einschließen	

Tabelle 11: Arbeitsschritte der PAS-Färbung [Modifiziert nach dem Krankenhausprotokoll der Autonomen Provinz Bozen-Südtirol, 2003, siehe Anhang]

### 2.15.4 Giemsa

Die Giemsa Färbung gilt als selektive Methode, um Zelltypen zu differenzieren und zur Erkennung von Parasiten im Gewebe. Die Färbung wird oft auch zur Darstellung des Endothelretikulums gebraucht [KRANKENHAUSPROTOKOLL DER AUTONOMEN PROVINZ BOZEN-SÜDTIROL, 2003, SIEHE ANHANG] Für diese Studie wird ein Erkennen von Parasiten erhofft. Bei der Beurteilung der Ergebnisse ist zu beachten, dass das Färberesultat deutliche Unterschiede aufweisen kann. Die Intensität der Färbung hängt vom pH-Wert der Lösung, der Pufferlösung, der Puffersubstanzen, der Färbezeit und der Art der Fixierung ab [ACADEMIC DICTIONARIES AND ENCYCLOPEDIAS]. Die Färbedauer beträgt 50min.

Farbstufen:

Zellkerne, DNA → rotviolett

Erythrozyten → blaßrot/rosa

Protozoen, Parasiten → leuchtend rot

Eosinophile Granula → rötlich-braun

Basophile Granulozyten → blau

Neutrophile Granulozyten → rotviolett

Zytoplasma → bläulich

Bakterien → blau

Erforderliche Reagenzien für die Giemsa Färbung:

- Lösung A: Giemsa Lösung : 45 ml Puffer pH 6,88 + 5 ml Giemsa

## Material und Methoden

- Lösung B: 50ml AD + 4-5 Tropfen Eisessig 1%  
[KRANKENHAUSPROTOKOLL DER AUTONOMEN PROVINZ BOZEN-SÜDTIROL, 2003, SIEHE ANHANG]

Reagenzien	Zeit
▪ Schnitte entparaffinieren und in AD geben	18
▪ Objektträger in Giemsa Lösung A geben und in den Ofen bei 60°C stellen	30
▪ AD	1
▪ Differenzieren mit Lösung B	1-4 mal kurz tauchen
▪ Schnell in AD stoppen	schnell
▪ Alkohol 70%	0,3 (~20sec., relativ schnell)
▪ Alkohol 80%	0,3 (~20sec., relativ schnell)
▪ Alkohol 96%	0,3 (~20sec., relativ schnell)
▪ Alkohol 96%	0,3 (~20sec., relativ schnell)
▪ Alkohol 100%	1
▪ Alkohol 100%	1
▪ Xylol	1
▪ Xylol	2
▪ Xylol	2
▪ Eindecken mit Roti®-HistokittII	

**Tabelle 12: Arbeitsschritte für die Giemsa Färbung [Modifiziert nach dem Krankenhausprotokoll der Autonomen Provinz Bozen-Südtirol, 2003, siehe Anhang]**

Anmerkung:

Ist der Schnitt zu hell, kann der Vorgang bis zur Differenzierung zurück abgehandelt

## Material und Methoden

werden und noch ein paar Mal in Lösung B getaucht werden. Der Schnitt soll rosa-hellblau, aber eher dunkel ausfallen!

### 2.15.5 Grocott (Silbermethenamin)

Mit dieser Färbung können Pilze, Protozoen (*Pneumocystis carinii*), Bakterien in Sputumausstrichen oder BAL- Untersuchungen von HIV Patienten diagnostiziert werden [KRANKENHAUSPROTOKOLL DER AUTONOMEN PROVINZ BOZEN-SÜDTIROL, 2003, SIEHE ANHANG] In dieser Studie sollen eventuelle Pilze nachgewiesen werden. Protozoen, Pilze, Bakterien werden schwarz angefärbt. Die Färbedauer beträgt 2 Stunden und 30 min. [KRANKENHAUSPROTOKOLL DER AUTONOMEN PROVINZ BOZEN-SÜDTIROL, 2003, SIEHE ANHANG]

Reagenzien:

- Chromsäure 5%
- Natriumbisulfit 1%
- Methenamin-Silber-Gebrauchslösung
- Goldchlorid 0,1%
- Natriumthiosulfat 2%
- HTX-Eosin

Zubereitungen der Lösungen:

- Chromsäure 5% in Lösung: 2,5g Chromsäure( $\text{CrO}_3$ ) in 50ml AD lösen
- Natriumbisulfit 1%: 1g Natriumbisulfit ( $\text{NaHSO}_3$ ) in 100 ml AD lösen
- Methenamin-Silber-Gebrauchslösung: 25ml 3%iger Hexamethylentetramin (3g in 100ml AD) + 1ml 10%iges Silbernitrat (10g in 100ml AD). Es bildet sich ein weißer Niederschlag, der sich durch das Schütteln der Lösung auflöst. Kurz vor Gebrauch 25ml 0,3%iges Dinatriumtetraborat dazugeben.
- Goldchlorid 0,1%: 0,1g Goldchlorid ( $\text{AuCl}_4$ ) in 100 ml AD lösen
- Natriumthiosulfat 2%: 2g Natriumthiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) in 100ml AD lösen.

## Material und Methoden

Reagenzien	Zeit in Minuten
▪ Schnitte entparaffinieren und in AD geben (siehe oben)	18
▪ In Chromsäure 5% stellen	60
▪ Wässern (in fließendem Leitungswasser)	2
▪ 1%iges Natriumbisulfit	1
Um Rückstände der Chromsäure zu entfernen:	
▪ Wässern	5
▪ AD	kurz
▪ AD	kurz
▪ AD	Kurz
▪ Objektträger in Methenamin-Silber-Gebrauchslösung in den Ofen bei 57°C einstellen	70
Nach der Inkubation sollten die Schnitte eine gelb-braune Farbe aufweisen	
▪ AD	kurz
▪ AD	kurz
▪ AD	kurz
▪ Goldchlorid 0,1%	5
▪ AD	kurz
▪ AD	kurz
▪ AD	kurz
▪ Entfernung des unreduzierten Silbers in 3%igen Natirumthiosufat	7
▪ AD	kurz
▪ AD	kurz
▪ AD	kurz
▪ HTX- Eosin zur Kontrastfärbung	4min.
▪ Alkohol 60%	schnell
▪ Alkohol 80%	schnell
▪ Alkohol 96%	schnell
▪ Alkohol 100%	schnell
▪ Xylol	1

## Material und Methoden

▪ Xylol	2
▪ Xylol	2
▪ Eindecken mit Roti®-HistokittII	

Tabelle 13: Arbeitsschritte für die Grocott Färbung [Modifiziert nach dem Krankenhausprotokoll der Autonomen Provinz Bozen-Südtirol, 2003, siehe Anhang]

### 2.15.6 Gram Färbung

Mit der Gram-Färbung können Bakterien und deren Morphologie, wie z. B. Kokken oder Stäbchen nachgewiesen werden. Zusätzlich erlaubt sie die Unterscheidung zwischen Gram-positiv und Gram-negativ. Zuerst wird der Schnitt in dem Anilinfarbstoff Kristallviolett (positiv geladen) getaucht. Nach der Behandlung mit der Iodlösung entsteht in der Mureinschicht der Bakterienzellwand ein Komplex aus Farbstoff und Iod. Diese Verknüpfung ist bei Gram-positiven Bakterien stabiler, als bei Gram-negativen und kann sich deshalb beim Differenzieren nicht so schnell entfärben, die Gram-positiven bleiben also farbig. Durch zu langem Differenzieren kann es jedoch passieren, dass auch die Gram-positiven entfärbt werden. Gram-negative Bakterien können durch eine Gegenfärbung mit Karbolfuchsin oder Safranin gegengefärbt werden [MULISCH und WELSCH (b), 2010].

Dunkelviolett angefärbt werden:

- Gram-positive Bakterien
- Fibrin
- Keratin
- Kalk [MULISCH und WELSCH (b), 2010]

Rötlich-orange gefärbt werden:

- Gram-negative Bakterien [MULISCH und WELSCH (b), 2010]

Reagenzien:

- Kristallviolettlösung
- Lugol'sche Lösung
- Differenzierungslösung

## Material und Methoden

- Karbolfuchsinlösung
- Safraninlösung

Die Farbstofflösungen gibt es gebrauchsfertig im Handel zu kaufen [MULISCH und WELSCH (b), 2010].

Reagenzien	Zeit in Minuten
▪ Schnitte entparaffinieren und in AD geben (siehe oben)	18
▪ Kristallviolettlösung	2-3
▪ in AD spülen	
▪ Objektträger in der Differenzierungslösung schwenken, bis sich keine Farbe mehr löst	
▪ in AD gut spülen	
▪ mit Karbolfuchsin oder Safranin gegenfärben	1
▪ in AD spülen (siehe oben)	
▪ Xylol (siehe oben)	
Eindecken mit Roti®-HistokittII	

Tabelle 14: Arbeitsschritte zur Gram-Färbung [MULISCH und WELSCH (b), 2010]

### 2.15.7 Modifizierung der Entparaffinierungszeiten und Dehydrierungszeiten bei der Färbung

Bei der Hautprobe mit der Glycerin/ Formaldehyd Rehydrierung wurde die Einwirkzeit in der aufsteigenden Alkoholreihe von 6min. auf kurzes Eintauchen reduziert. Dies soll den Einfluss der Eintauchzeiten auf das Gewebe zeigen.

Reagenzien	Zeit in Minuten
▪ Xylol	2
▪ Alkohol 100% (vergällt)	0,5
▪ Alkohol 96%	0,5

## Material und Methoden

▪ Alkohol 80%	1
▪ Alkohol 70%	1
▪ AD	2

Tabelle 15 Modifizierung der Entparaffinierungs- und Dehydrierungszeiten bei der Färbung

### 2.16 Mikroskopieren und Photographieren

Die fertigen Objektträger wurden mit den Objektiven 2x, 4x, 10x, 40x und 100x mikroskopiert, dies entspricht einer Vergrößerung von 20, 40, 100, 400 und 1000, anschließend wurden die fertigen Schnitte photographiert. Unter den Bildern wurde die jeweilige Größe des Objektivs und nicht die tatsächliche Vergrößerung angegeben. Die Bilder wurden dann konvertiert, tabellarisch archiviert und ausgewertet.

### 2.17 Bewertung

Nach dem Mikroskopieren wurden die gefärbten Proben des Lungengewebes verglichen und ausgewertet, um die besten Rehydrierungsmethoden zu selektieren. Sieben Rehydrierungslösungen wurden am Lungengewebe getestet, eine Probe wurde zum Vergleich nicht rehydriert. Als Rehydrierungsmedium standen die SolutionII, SolutionIII, RufferI, RufferII, Zimmermann, Wiest et.al und die Sandison zur Auswahl.

#### 2.17.1 Bewertungskriterien der Lungenprobe

Um die besten Rehydrierungslösungen zu filtrieren, wurden die Ergebnisse der Lungenproben anhand vier Kriterien verglichen. Wichtig für die Auswahl war:

- eine gute Darstellung der Kollagenstruktur
- ein guter Überblick der Gewebsstruktur
- ideale Färbungen (HE- und PAS Färbungen) und
- Details

## Material und Methoden

Die Bewertung der Ergebnisse wurde mit „mangelhaft (-), gut (+) und sehr gut (++)“ klassifiziert. Die HE- und die PAS Färbung wurde zur Qualitätskontrolle doppelt durchgeführt. Um die Qualität besser beurteilen zu können, wurde mit wenigen Ausnahmen darauf geachtet, Schnitte mit derselben Vergrößerung zu vergleichen. Die Fotos wurden vor der Beurteilung auf dem Bildschirm vergrößert analysiert, um die Strukturen besser auszuwerten.

Zur Benotung der Rehydrierungsqualität war eine gute Quellung des Gewebes wichtig, welche am besten am Kollagen sichtbar wird. Die kollagenen Fasern sollen bei einem sehr guten Schnitt nicht zu stark zerrissen sein.

Die „NEG“ Kontrolle kann im Punkt „Rehydrierungsqualität“ nicht gleich beurteilt werden wie die anderen Schnitte, da dieses Lungengewebe nicht rehydriert wurde. Aus diesem Grund wurde in der Tabelle „Ergebnisse der Lungenprobe aus Piraino“ ein Leerzeichen eingesetzt.

Beim Bewertungspunkt „Überblick/Strukturerhalt“ sollte ein guter Schnitt sichtbar machen, dass es sich um Lungengewebe handelt. Typisch für das Lungengewebe sind die Alveolen, Muskelfasern, Arterien und Venen.

Die Bewertung der beiden Färbungen, HE und PAS, berücksichtigt die Intensität und die reiche Farbabstufung. Eine gute Färbung soll also abgestufte Farbnuancen aufweisen und intensiv ausfallen.

Bei den Details wurde die Feinstrukturierung des Gewebes beurteilt. Bei den Schnitten mit Anomalien der Zellsubstanz ist es einfacher ein positives Urteil auszusprechen, ist auf den Schnitten nur Kollagen zu sehen, tendiert das Urteil ins Negative zu fallen, obwohl das Kollagen auf den zweiten Blick im Detail gut sichtbar ist. Deshalb wurde bei Schnitten auf denen fast ausschließlich nur Bindegewebe sichtbar ist, sehr genau untersucht, ob Fibrillen zu sehen sind.

### **2.17.2 Bewertungskriterien der Hautproben**

Die Bewertungskriterien zu den Hautproben sind grundsätzlich ähnlich, wie die der untersuchten Lunge (siehe oben).

## Material und Methoden

Wichtig für die Auswahl war auch hier:

- ein guter Überblick der Gewebsstruktur
- ideale Färbungen (HE- und PAS Färbungen) und
- Details (Feinstrukturierung)

Der Punkt „Rehydrierungsqualität“ wurde bei diesen Proben nicht mit berücksichtigt, da das Ziel nicht das Selektieren der besten Rehydrierungslösungen ist, wie bei den Untersuchungen der Lunge, sondern es geht darum, den Erhaltungszustand der Gewebeproben und somit auch den mikroskopische Erhalt der Mumie an sich zu untersuchen.

Kleine Unterschiede gibt es bei der Benotung und im Punkt „Überblick/Strukturerhalt“. Bei der Benotung wurde die Note „ausreichend“ mit in die Beurteilung einbezogen. Auch hier wurde möglichst darauf geachtet, Schnitte mit derselben Vergrößerung zu vergleichen, manchmal wurde aber aufgrund der besseren Qualität eine andere Vergrößerung desselben Schnittes bevorzugt.

Beim Bewertungspunkt „Überblick/Strukturerhalt“ soll ein guter Schnitt sichtbar machen, dass es sich um Hautgewebe handelt. Typisch für das Hautgewebe sind die drei Hauptschichten, Epidermis, Dermis und Subkutis, welche nochmals unterteilt werden können (siehe: 1.4.2 Aufbau einer rezenten Haut).

Die Bewertung der Details soll Auskunft über die Feinstrukturierung geben, dabei wird das beste Bild aller Färbungen eines Schnittes beurteilt. Diese Beurteilung ist am Ende essentiell, denn sie gibt uns die Antwort, wie gut die Gewebe der Mumien konserviert sind.

Die Bildvergleiche der Schnitte zu den einzelnen Bewertungskriterien sollen die Ergebnisse in den Tabellen und der Beschreibungen veranschaulichen. Die Ergebnisse sind so besser nachvollziehbar und transparenter.

### **2.17.3 Bewertungskriterien für die Leber, die Niere und den Knochen**

Die Bewertung der Ergebnisse der Zweeloo Frau Proben basieren ausschließlich auf den Vergleich mit rezenten Schnitten. Die rezenten Proben sollen ein Bild über die

## Material und Methoden

möglichen Strukturen geben, die Bewertung der Mumifizierten Proben hängt also von der Qualität der noch sichtbaren Strukturen ab.

### 3 Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der acht verschiedenen Proben bezüglich der Rehydrierungsqualität, des Erhaltungszustandes, der Färbequalität und der Besonderheiten angegeben. Die Bilder der Schnitte sollen die Aussagen der Ergebnisse transparenter und nachvollziehbar machen. Die rezenten Proben dienen zur Referenz und unterstützen die Aussagekraft der erzielten Ergebnisse. In den Tabellen sind die Ergebnisse jeder Probe noch einmal kurz zusammengefasst und übersichtlich dargestellt.

#### 3.1 Lunge

##### 3.1.2 Bewertung der untersuchten Lunge

Die Bewertungskriterien können im Material- und Methoden Teil bei den „Bewertungskriterien der Lungenprobe“ nachgelesen werden.

In der unten angeführten Tabelle 16 „Ergebnisse der Lungenprobe aus Piraino“ sind die Ergebnisse der sieben Rehydrierungslösungen, inklusive der „negativ Kontrolle“ (NEG), bezüglich der Qualitätskriterien zusammengefasst. Die fett eingerahmten Rehydrierungen haben für diesen Untersuchungszweck die besten Eigenschaften und werden deshalb in dieser Studie weiterverarbeitet.

Rehydrierung	Rehydrierungs- qualität (Kollagenstruk- tur)	Überblick/ Strukturerhalt	Färbungen		Details
			HE	PAS	
NEG	/				
Solution III					
Solution II					
Ruffer I					
Ruffer II					

## Ergebnisse

Zimmermann					
Wiest et.al.					
Sandison					

Legende

Mangelhaft	Gut	Sehr gut	/ = Keine Rehydrierung
------------	-----	----------	------------------------

Tabelle 16: Ergebnisse der Lungenprobe aus Piraino

### 3.1.3 Bildervergleich der Rehydrierungsqualitäten

Die Solution II, Wiest et al. und die Zimmermann haben ein gutes Ergebnis gebracht, das Kollagen ist gut sichtbar, aber mehr gerissen als bei den sehr guten Schnitten. Mangelhaft, in Bezug der Rehydrierungsqualität, war die Lösung „Solution III“. Bei der „NEG“ Kontrolle ist das Kollagen sehr gut erhalten, nicht aufgequollen, wie bei den Schnitten mit der Benotung „sehr gut“, und deshalb auch nicht gerissen.

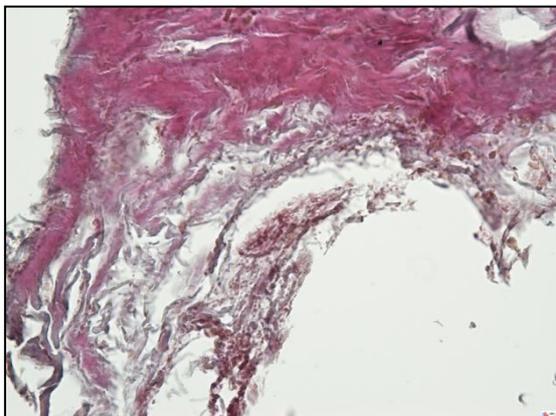


Abbildung 7: Piaino 6, Lunge, NEG, HE, x40



Abbildung 8: Piraino 6, Lunge, Solution III, HE, x40

Keine Rehydrierung:

- trotzdem sehr gut sichtbares Kollagen
- Kollagen nicht gerissen

Mangelhafte Rehydrierungsqualität:

- Kollagen ist nicht gut aufgequollen

## Ergebnisse

- leicht verschmierter Schnitt

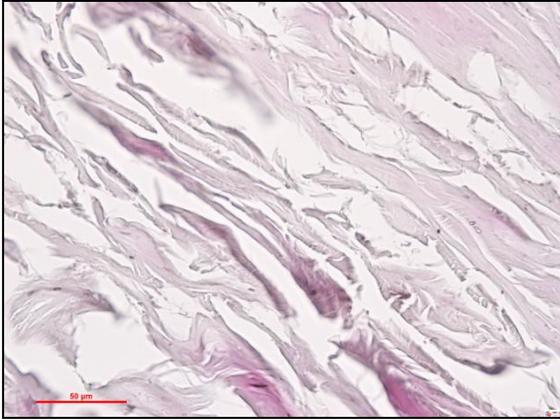


Abbildung 9: Piraino 6, Lunge, Solution II, HE, x40



Abbildung 10: Piraino 6, Lunge, Ruffer I, HE, x10

Gute Rehydrierungsqualität:

- Gewebe ist aufgequollen
- stark fragmentiert

Seht gute Rehydrierungsqualität:

- Sehr stark aufgequollen
- Sehr gut sichtbares Kollagen

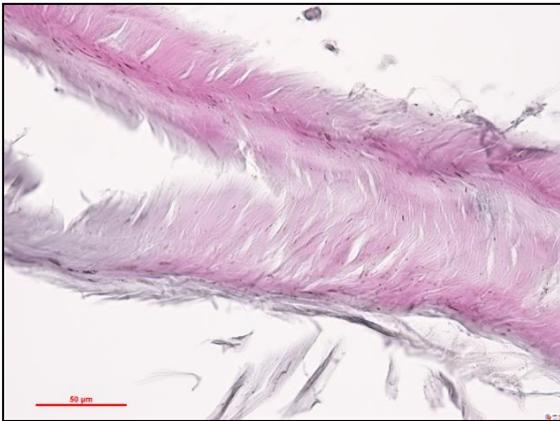


Abbildung 11 Piraino 6, Lunge, Ruffer II, HE, x40

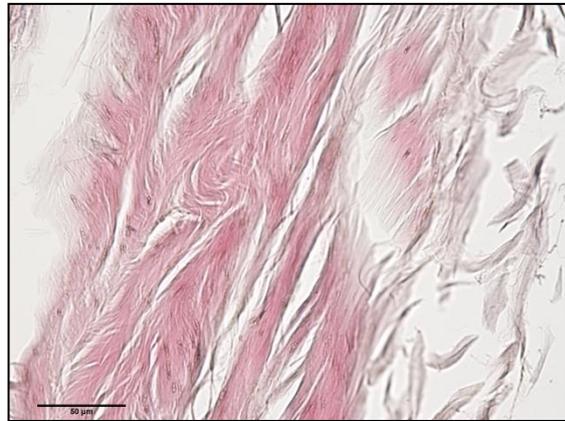


Abbildung 12: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x40

Sehr gute Rehydrierungsqualität:

- Sehr gequollen
- Zum Teil gerissen

Gute Rehydrierungsqualität:

- Gute Quellung
- Teilweise gerissen

## Ergebnisse

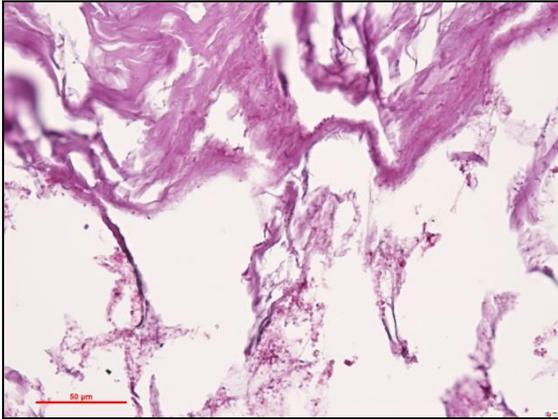


Abbildung 13: Piraino 6, Lunge, Wiest et al., PAS, x40

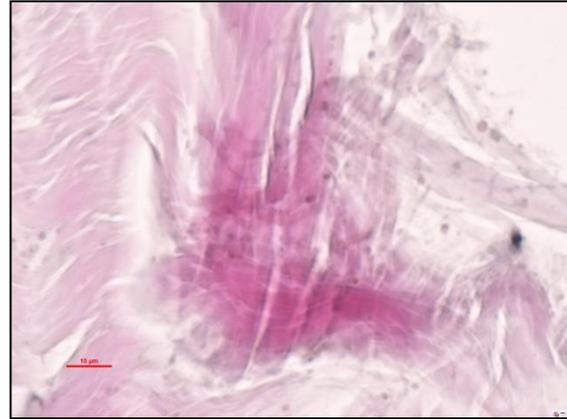


Abbildung 14: Piraino 6, Lunge, Sandison, HE, x40

Gute Rehydrierungsqualität:

- Gute Quellung
- Zum Teil gerissen

Sehr gute Rehydrierungsqualität:

- Sehr gute Quellung

### 3.1.4 Bildvergleich zum Überblick und Strukturerehalt

Die Solution III hat hier am besten abgeschlossen und wurde deshalb mit „sehr gut“ benotet. Die NEG-, Solution II- und die Wiest et al. Probe haben mit „gut“ abgeschnitten, alle anderen fielen mangelhaft aus.

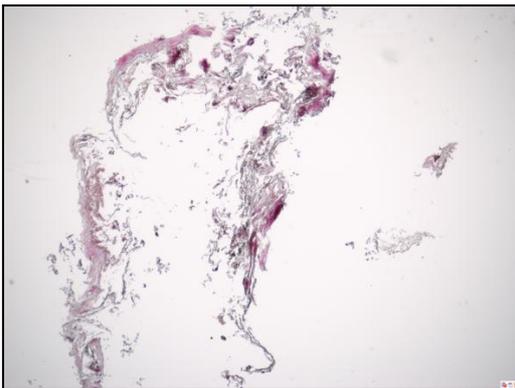


Abbildung 15: Piraino 6, Lunge, NEG, HE, x4

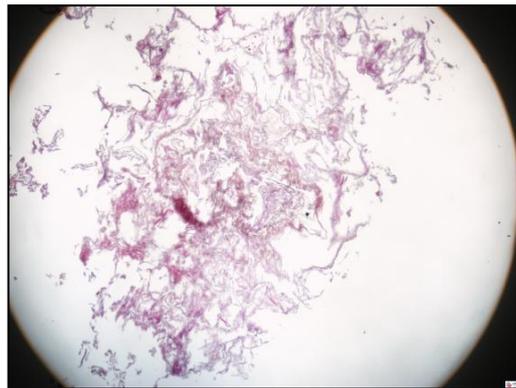


Abbildung 16: Piraino 6, Lunge, Solution III, HE, x4

Guter Strukturerehalt:

- Guter Überblick
- Alveolen und Muskelfasern sicht

Sehr guter Strukturerehalt:

- Sehr guter Überblick
- Alveolen und Kollagen sichtbar

## Ergebnisse

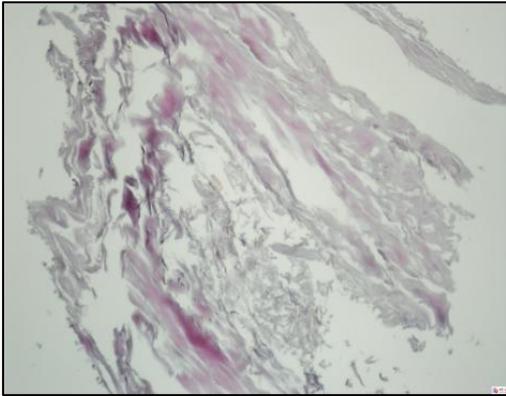


Abbildung 17: Piraino 6, Lunge, Solution II, HE, x4

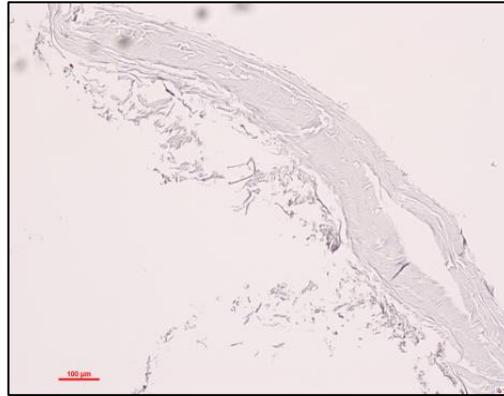


Abbildung 18: Piraino 6, Lunge, Ruffer I, HE, x10

### Guter Strukturerehalt:

- Alveolen und Muskelfasern erkennbar

### Mangelhafter Strukturerehalt:

- Lungengewebe schlecht erkennbar
- Nur Kollagen ist sichtbar



Abbildung 19: Piraino 6, Lunge, Ruffer II, HE, x10

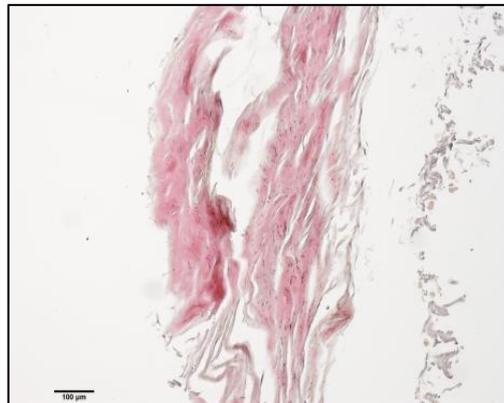


Abbildung 20: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x10

### Mangelhafter Strukturerehalt:

- Keine Lungenstruktur erkennbar
- Kollagenfasern sichtbar

### Mangelhafter Strukturerehalt:

- Lungenstruktur kaum erkennbar
- Alveolen sind nur erahnbar

## Ergebnisse

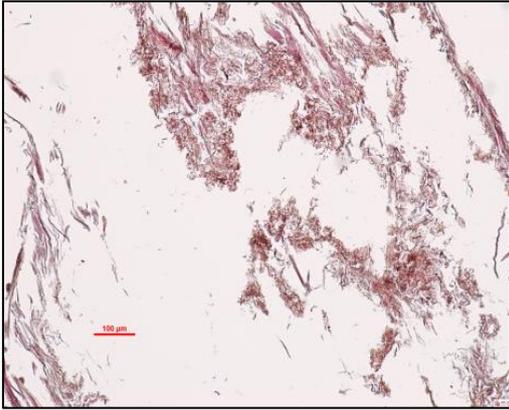


Abbildung 21: Piraino 6, Lunge, Wiest et al. HE, x10

Guter Strukturerehalt:

- Alveolen schön sichtbar



Abbildung 22: Piraino 6, Lunge, Sandison; HE, x10

Mangelhafter Strukturerehalt:

- Lungenstruktur kaum erkennbar
- Alveolen sind nur erahnbar

### 3.1.5 Bildervergleich zur HE Färbung

Wie oben schon erwähnt, wurde die HE- und die PAS Färbung zur Qualitätskontrolle doppelt durchgeführt, dabei ist zu bemerken, dass der zweite Durchlauf bei beiden Färbungen tendenziell heller ausgefallen ist. Die HE Methode hat bei den Proben mit der Beschriftung NEG, Solution III, Zimmermann oder Wiest et al. sehr gute Ergebnisse gebracht. Die beiden Ruffer I und Sandison haben gut funktioniert, Solution II und Ruffer II sind mangelhaft.

## Ergebnisse

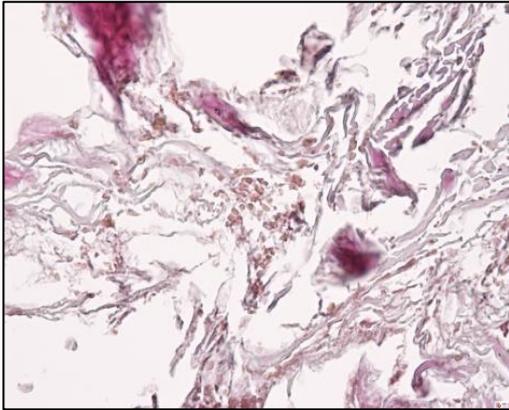


Abbildung 23: Piraino 6, Lunge, NEG, HE, x40

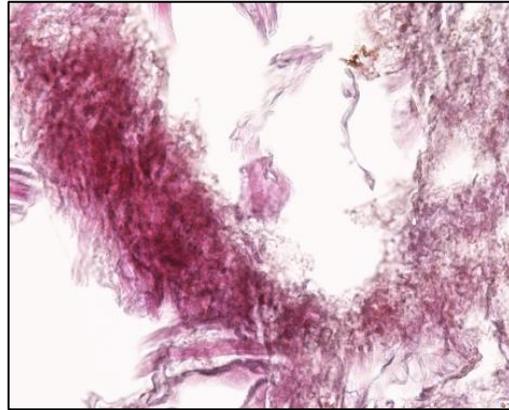


Abbildung 24: Piraino 6, Lunge, Solution III, HE, x40

Sehr gute Färbung:

- Sehr gute Farbabstufung
- Sehr gute Intensität

Sehr gute Färbung:

- Sehr gute Farbabstufung
- Sehr gute Intensität

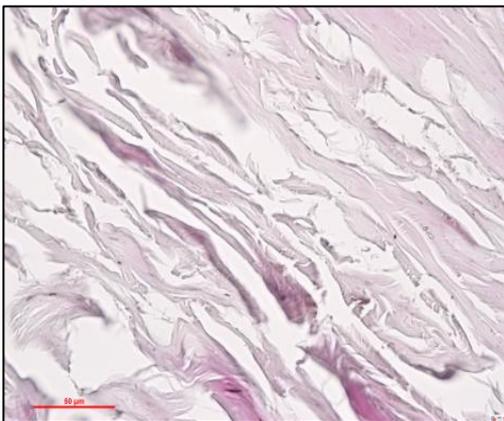


Abbildung 25: Piraino 6, Lunge, Solution II, HE, x40



Abbildung 26: Piraino 6, Ruffer I, HE, x40

Mangelhafte Färbung:

- Mangelnde Intensität und deshalb auch
- geringe Farbabstufung

Gute Färbung:

- Gute Farbabstufung
- Sehr intensiv

## Ergebnisse



Abbildung 27: Piraino 22, Lunge, Ruffer II, HE, x40

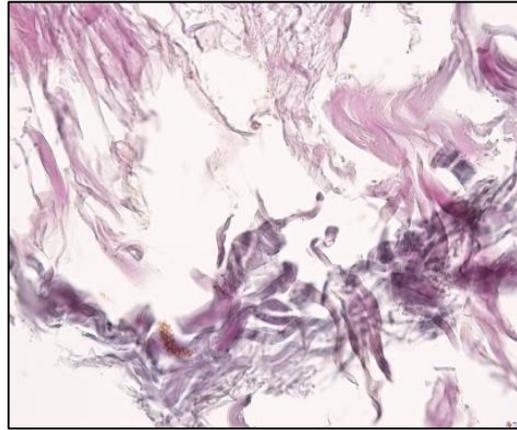


Abbildung 28: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x40

### Mangelhafte Färbung:

- Geringe Farbabstufung
- Blass

### Sehr gute Färbung:

- Sehr gute Farbabstufung
- Sehr intensiv

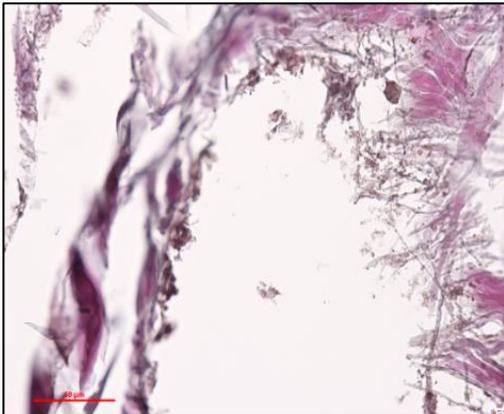


Abbildung 29: Piraino 6, Lunge, Wiest et al., HE, x40

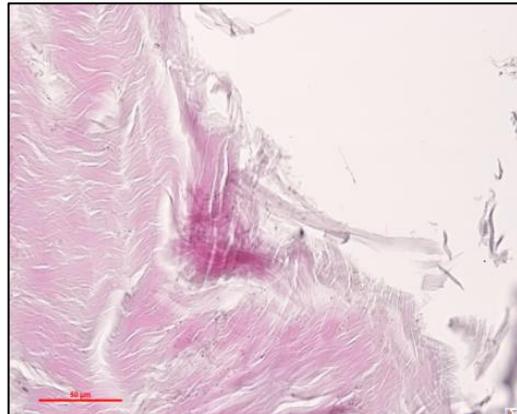


Abbildung 30: Piraino 6, Lunge, Sandison, HE, x40

### Sehr gute Färbung:

- Gute Farbabstufung
- Sehr intensiv

### Gute Färbung:

- Geringe Farbskalierung
- Gute Intensität

## Ergebnisse

### 3.1.6 Bildvergleich zur PAS Färbung

Die PAS- Färbung hat insgesamt gut abgeschnitten und hat bei der NEG- Probe sogar ein „Sehr gut“ verdient.

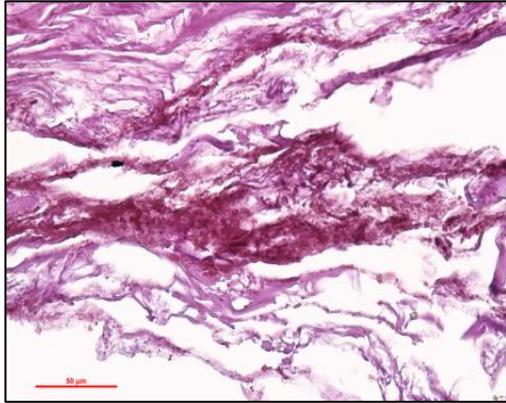


Abbildung 31: Piraino 6, Lunge, NEG, PAS, x40

Sehr gute Färbung:

- Intensive Farbgebung
- Gute Farbabstufung

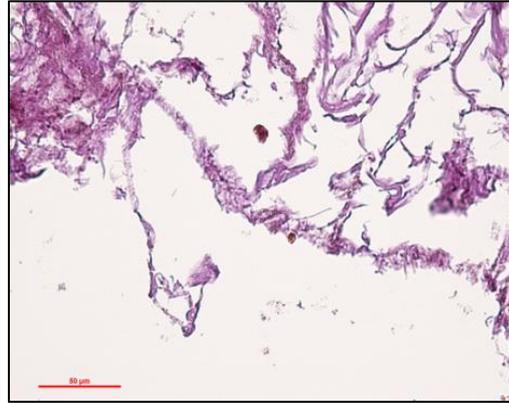


Abbildung 32: Piraino 6, Lunge, Solution III; PAS, x40

Gute Färbung:

- Intensive Färbung

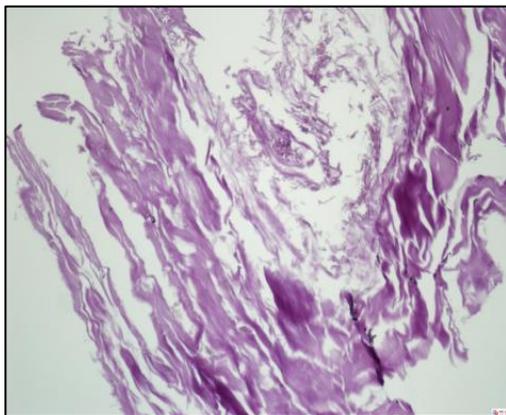


Abbildung 33: Piraino 6, Lunge, Solution II, PAS, x10

Gute Färbung:

- Intensive Färbung

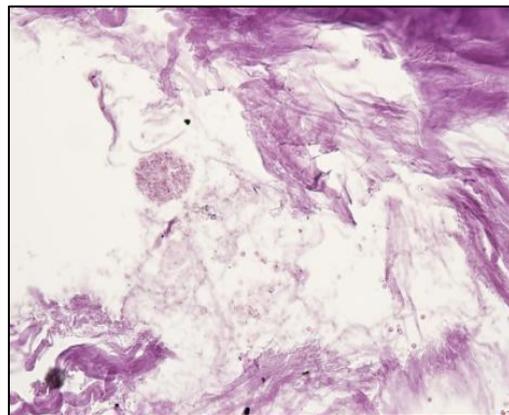


Abbildung 34: Piraino 6, Lunge, Ruffer I, PAS, x40

Gute Färbung:

- Gute Farbtönen

## Ergebnisse

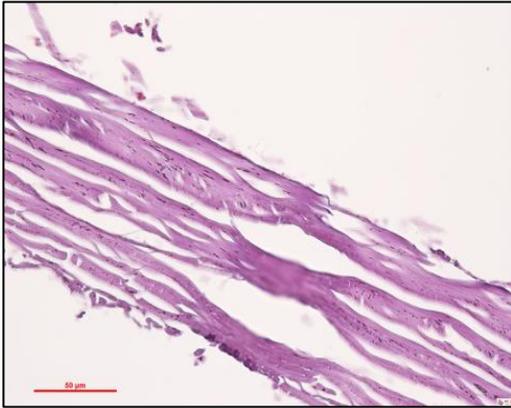


Abbildung 35: Piraino 6, Lunge, Ruffer II, PAS, x40

Gute Färbung:

- Satte Färbung

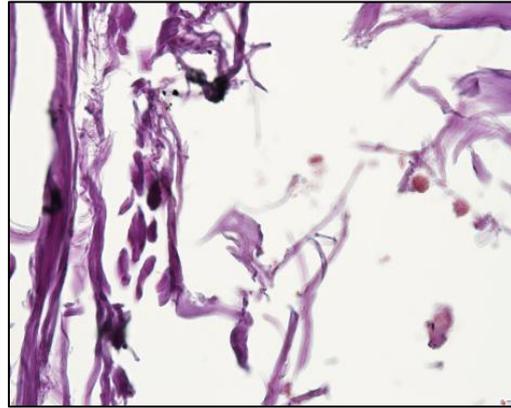


Abbildung 36: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, PAS, x40

Gute Färbung:

- Kräftige Färbung
- Gute Farbabstufung

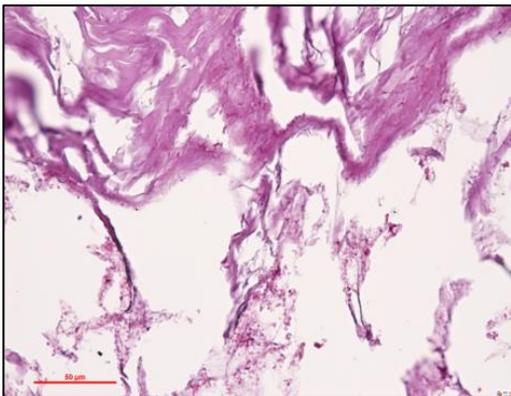


Abbildung 37: Piraino 6, Lunge, Wiest et al., PAS, x40

Gute Färbung:

- Gute Farbintensität

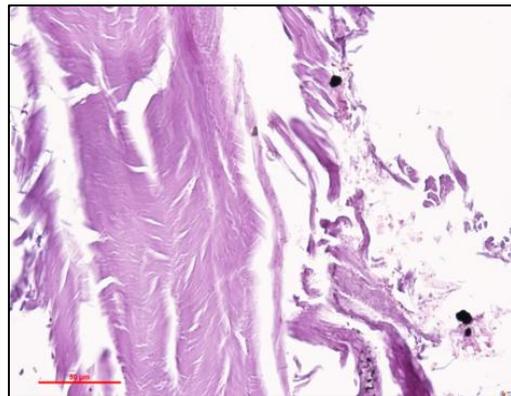


Abbildung 38: Piraino 6, Lunge, Sandison, PAS, x40

Gute Färbung:

- Gute Farbabstufung

### 3.1.7 Bildervergleich zu den Details

Die besten Details sind auf den Schnitten „NEG, Solution III“ und „Wiest et al.“ zu sehen, gefolgt von „Ruffer I, Ruffer II, Zimmermann“ und „Sandison“. Die Solution II ist mit „mangelhaft“ zu bewerten.

## Ergebnisse

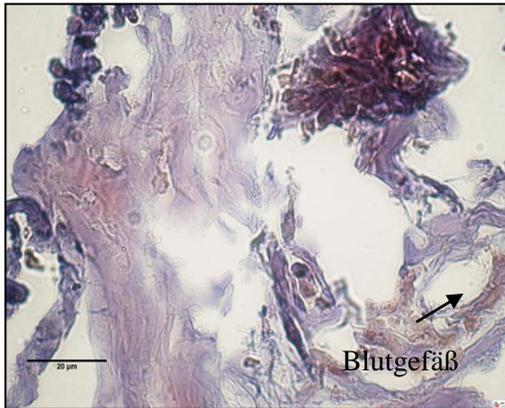


Abbildung 39: Piraino 6, Lunge, NEG, Grocott, x100

Sehr gute Details:

- Blutgefäß sichtbar

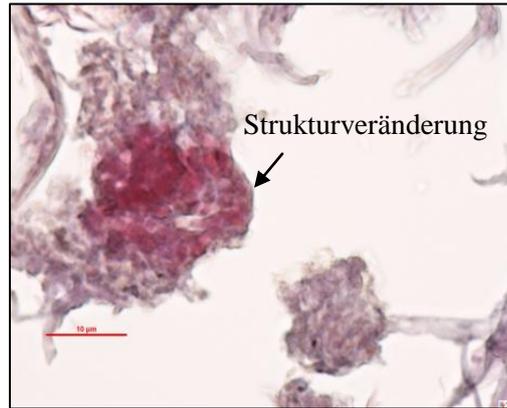


Abbildung 40: Piraino 6, Lunge, Solution III, HE, x100

Sehr gute Details:

- Strukturveränderung sichtbar

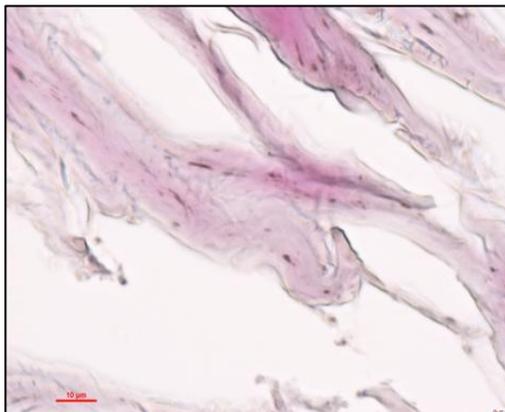


Abbildung 41: Piraino 6, Lunge, Solution II, HE, x100

Mangelnde Details:

- Keine Faserung sichtbar

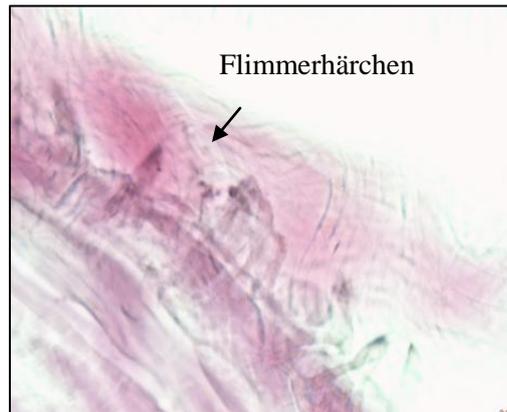


Abbildung 42: Piraino 6, Lunge, Ruffer I, HE, x100

Gute Details:

- Flimmerhärchen sichtbar

## Ergebnisse



Abbildung 43: Piraino 6, Lunge, Ruffer II, HE, x40

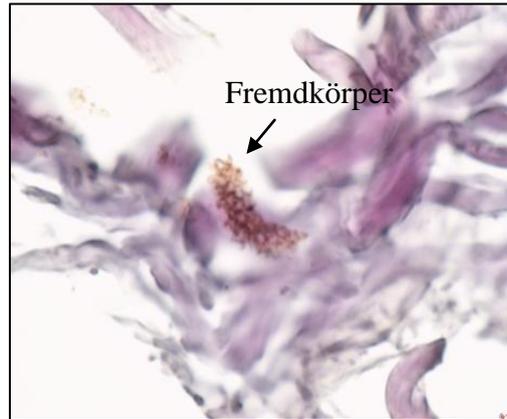


Abbildung 44: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x100

Gute Details:

- Einzelne Kollagenfasern sichtbar

Gute Details:

- Fremdkörper sichtbar

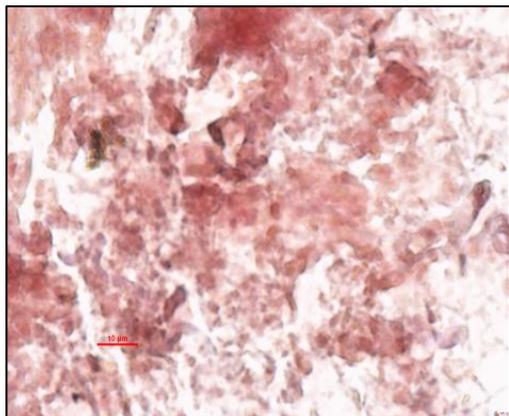


Abbildung 45: Piraino 6, Lunge, Wiest et al., HE, x100

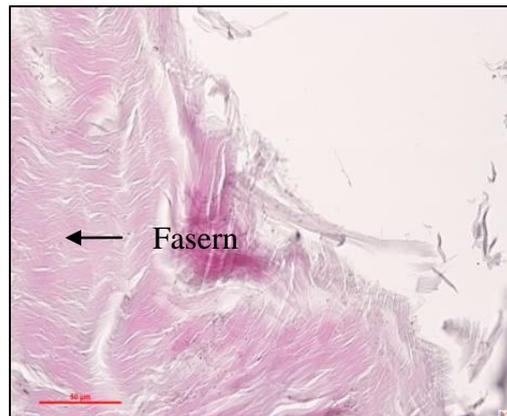


Abbildung 46: Piraino 6, Lunge, Sandison, HE, x40

Sehr gut erhaltene Details:

- Grieselige, feinkörnige Struktur

Gute Details:

- Kollagene Fasern sichtbar

### 3.1.8 Besonderheiten

Die Bilder zeigen einige Ausschnitte mit veränderter Gewebsstruktur und mögliche pathogene Erreger. Die Probleme, welche bei der Beurteilung einer pathologischen Veränderung vorliegen werden im Kapitel „Diskussion“ beschrieben.

## Ergebnisse

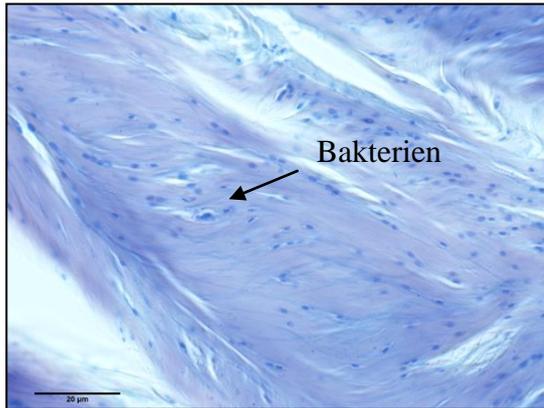


Abbildung 47: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, Giemsa, x40



Abbildung 48: Piraino 6, Lunge, NEG, PAS, x100

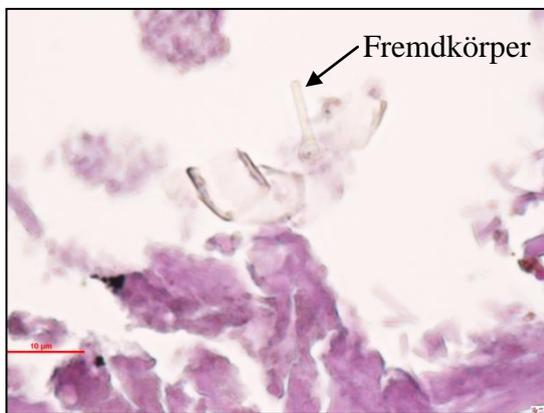


Abbildung 49: Piraino 6, Lunge, Solution III, PAS, x100

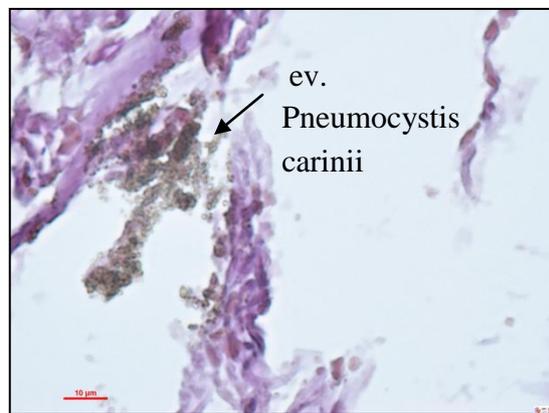


Abbildung 50: Piraino 6, Lunge, NEG, PAS, x100



Abbildung 51: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x100



Abbildung 52: Piraino 6, Zimmermann, PAS, x100

## Ergebnisse



Abbildung 53: Piraino 6, Lunge, Ruffer I, PAS, x100

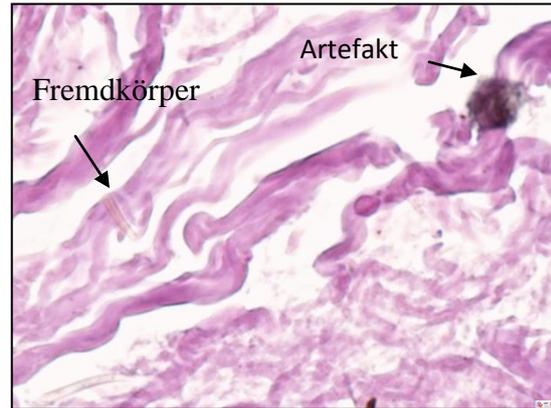


Abbildung 54: Piraino 6, Lunge, Ruffer, PAS, x100



Abbildung 55: Piraino 6, Lunge, Solution II, PAS, x100



Abbildung 56: Piraino 6, Lunge, Ruffer II, Giemsa, x100

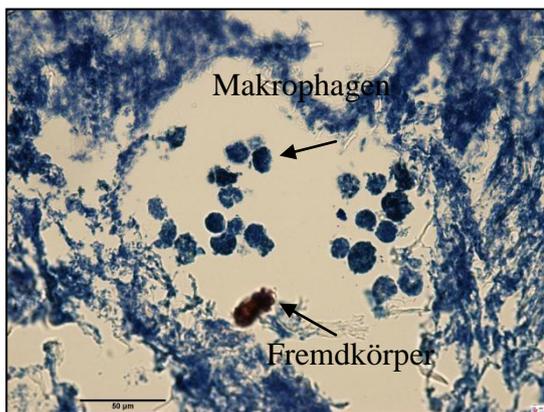


Abbildung 57: Piraino 6, Lunge, Solution III, Giemsa, x40

## Ergebnisse

### 3.1.9 Rezente Lunge

Die histologischen Schnitte der Lunge zeigen eine sehr schöne Struktur mit Alveolen und Blutgefäßen (siehe Abb.: 58), einen sehr guten Überblick und sehr gute Details (Zilien, Erythrozyten und Zellen, siehe Abb.: 60). In der Lunge findet man anthrakotische Ablagerungen (siehe Abb.: 59), welche durch die Umweltbelastung oder durch Tabakrauch die Lunge belasten.

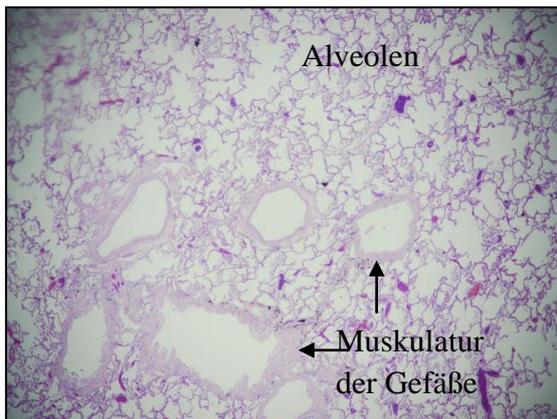


Abbildung 58: Rezente Lunge, HE, x4

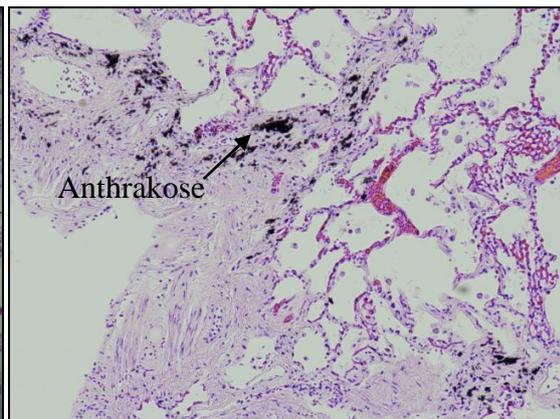


Abbildung 59: Rezente Lunge, x4

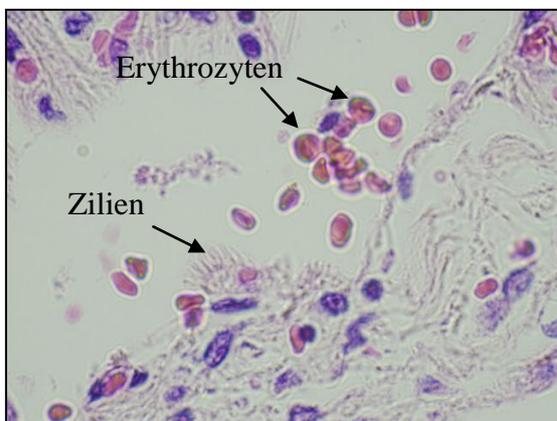


Abbildung 60: Rezente Lunge, HE, x100

### 3.1.10 Zusammenfassung der Ergebnisse der Lunge

Ziel dieser histologischen Untersuchung der Lunge war es, die besten Rehydrierungslösungen zu erkennen und eine spezifische Auswahl der Lösungen für die nächsten zu rehydrierenden Gewebe zu treffen.

Die Erwartung, dass eine gute Rehydrierung einen besseren Überblick der Struktur

## Ergebnisse

zeigt, konnte nicht bestätigt werden, vielmehr ist das Gegenteil zu verzeichnen. Bei den meisten Lösungen mit einem guten bis sehr guten Rehydrierungsergebnis, fiel die Benotung des Strukturerhalts mangelhaft aus. Bei der Negativ Kontrolle war trotz fehlender Rehydrierung ein guter Strukturerhalt gegeben.

Zum Erhaltungszustand kann man sagen, dass das Kollagen gut erhalten ist, im Vergleich zur rezenten Lunge sind keine Zellen mit Zellkernen sichtbar. Alveolen sind an den luftleeren Räumen im Gewebe erkennbar.

Zu den Besonderheiten ist zu erwähnen, dass Fremdkörper im Lungengewebe eingeschlossen sind (siehe Abb.: 49,51,54,55,57). Dies ist nicht ungewöhnlich, da Staubkörner, Erreger und andere Schmutzpartikel leicht eingeatmet werden können, auch post mortem ist eine Verunreinigung z.B. von Pilzen (siehe Abb.: 50 und 52) möglich. Veränderungen des Gewebes könnten auf eine Nekrose hinweisen (siehe Abb.: Aufgrund der Größenordnung, der Form und Färbung könnten Bakterien (siehe Abb.: 47 und 53), Makrophagen (siehe Abb.: 57) und Erythrozyten (siehe Abb.: 56) in der Lunge vorhanden sein. Das Foto „Piraino 6 Lunge, NEG, PAS, x100“ zeigt möglicherweise eine Pneumozystose, hervorgerufen durch *Pneumocystis carinii*. Form und Farbe sprechen für diese Diagnose. Auf dem Bild „Ruffer I, PAS, x100“ ist eine stäbchenartige, hohle Struktur erkennbar. Der Hohlkörper beinhaltet eine längliche fadenförmige Struktur, dieses Erscheinungsbild sieht einem Parasit oder einem stäbchenförmigen Bakterium ähnlich, könnte aber auch ein Fremdkörper sein. Die HE (siehe Abb.: 23, 24, 26, 28, 29, 30)- und die PAS Färbungen (siehe Abb.: 31-38) sind mit zwei Ausnahmen (Solution II (siehe Abb.: 25) und Ruffer II (siehe Abb.: 27), beide mit HE Färbung) alle gut oder sehr gut ausgefallen.

Die Solution II ist die einzige Lösung mit mangelnden Details (siehe Abb.: 41).

Zusammenfassend kann man sagen, dass die negativ Kontrolle, die Solution III und die Wiest et al. die besten Ergebnisse gebracht haben. Die Lösungen Ruffer I, Zimmermann und Sandison haben mit gleicher Punktezahl abgeschnitten, wobei die Sandison Lösung im Punkt „Strukturerhalt“ minimal besser abgeschnitten hat. Da im Rahmen dieser Arbeit der Strukturerhalt des Gewebes genauer untersucht wird, fiel die Auswahl auch auf die Sandison Lösung.

Am besten abgeschlossen haben die Negativ Kontrolle, Solution III, Wiest et al. und die Sandison Lösung.

### **3.2 Haut**

#### **3.2.1 Bewertung der untersuchten Hautproben**

Die Bewertungskriterien zu den Hautproben finden sie im Teil „Material und Methoden“.

#### **3.2.2 Ergebnisse der Haut der Trockenmumie Nr. 18 aus Piraino**

##### **3.2.2.1 NEG**

Bei der Negativ Kontrolle kann man die drei Hauptschichten Epidermis, Dermis und Subkutis trotz Klaffung des Gewebes sehr gut erkennen. Die Epidermis kann man jedoch nur an der dunkelvioletten Färbung des Stratum granulosum erkennen. Die zwei Schichten (Str. papillare und Str. retikulare) der Dermis kann man gut aufgrund der unterschiedlichen Struktur differenzieren. In der Subkutis sind die eingelagerten Fettzellen gut sichtbar. Unter der Subkutis findet man noch eine Muskelschicht (siehe Abb.: 61). Zu den Besonderheiten kann man die PAS-positiv gefärbten Strukturen zählen (siehe Abb.: 69).

Die HE (siehe Abb.: 61-64)- und die PAS Färbung (siehe Anhang: Piraino 18, NEG, PAS) sind sehr gut ausgefallen. Die Giemsa Färbung hat mit „gut“ abgeschlossen (siehe Anhang: Piraino 18, NEG, Giemsa). Die Struktur ist im Detail mangelhaft erhalten.

##### **3.2.2.2 Solution III**

Obwohl die Färbung beim Schnitt mit der Solution III Rehydrierung eher blass ausfiel, sind die drei Schichten der Haut gut erkennbar. Von der Epidermis ist nur die Körnerschicht (Str. granulosum) zu erkennen. Die Schichten der Dermis sind unverwechselbar und die Fettschicht signalisiert die Zone der Subkutis (siehe Abb.: 62). Die HE-Färbung ist eher blass aber ausreichend (siehe Anhang: Piraino 18, Solution III, HE), die Giemsa ist sehr blass und deshalb mangelhaft zu benoten (siehe Anhang: Piraino 18, Solution III, Giemsa). Die PAS-Färbung ist sehr gut ausgefallen (siehe Anhang: Piraino 18, Solution III, PAS). Die Details sind sehr gut erhalten (siehe: HE-Färbung, x100)

##### **3.2.2.3 Wiest et al.**

Bei der Hautprobe mit der Wiest et al. Rehydrierung ist eine Orientierung sehr

## Ergebnisse

schwierig und fällt somit „mangelhaft“ aus, Teile der Dermis und der Subkutis kann man nur vermuten. Beobachtet man das Gewebe aber im Detail, so ist es sehr gut erhalten (siehe Abb.: 63).

Die HE (siehe Abb.: 63)- und PAS- Färbungen sind „sehr gut“ (siehe Anhang: Piraino 18, Wiest et al., PAS), die Giemsa- Färbung ist eher blass und daher mit „mangelhaft“ zu bewerten (siehe Anhang: Piraino 18, Wiest et al., Giemsa).

### **3.2.2.4 Sandison**

Der Schnitt mit der Sandison Lösung bietet mit der blassen He-Färbung einen mangelhaften Überblick. Eine Unterteilung der drei Hautschichten ist jedoch gegeben und schneidet deshalb bezüglich der Strukturhaltes mit „gut“ ab. Die Epidermis ist auch hier nur durch das Str. granulosum zu erkennen (siehe Abb.: 64). Details sind gut erkennbar (siehe Anhang: Piraino 18, Sandison, PAS- Färbung, x100)

Die Färbungen HE (siehe Abb.: 64) und Giemsa (siehe Anhang: Piraino 18, Sandison, Giemsa) sind ausreichend und die PAS- Färbung ist gut gelungen (siehe Anhang: Piraino 18, Sandison, PAS).

### **3.2.2.5 Glycerin/ 4% Formaldehyd**

Die Glycerin/ Formaldehyd Lösung war ein Experiment, um den Einfluss der Einwirkzeiten der Dehydrierung nach der Fixierung und beim Färben zu untersuchen. Den genaueren Arbeitsablauf finden sie im „Methoden“ Teil dieser Arbeit. Das Ergebnis dieses Versuches war erstaunlich, durch verkürzen der Zeiten von der Dehydrierung bis zum Einbetten von 9h und 15min. auf 2 Stunden insgesamt brachte sehr gute Ergebnisse. Die Struktur ist kaum zerrissen, das Kollagen hat eine ideale Quellung und die HE- Färbung ist sehr intensiv und mit einer sehr guten Farbabstufung gekennzeichnet (siehe Abb.: 65). Die Details sind gut erhalten (siehe Abb.: 66).

### 3.2.2.6 Bildvergleich des Strukturerhaltes

Der Bildvergleich unterstützt die Aussagen der Bewertungen oben.

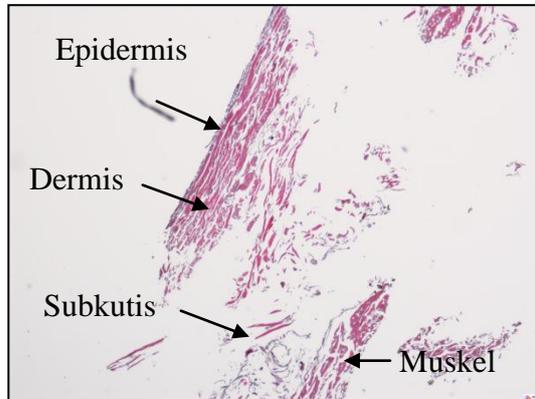


Abbildung 61: Piraino 18, Haut, NEG, HE, x4

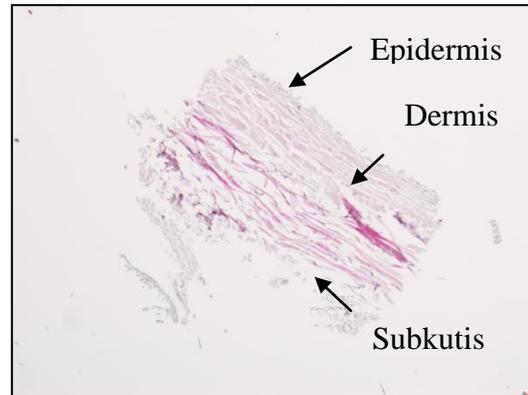


Abbildung 62: Piaino 18, Haut, Solution III, HE, x4

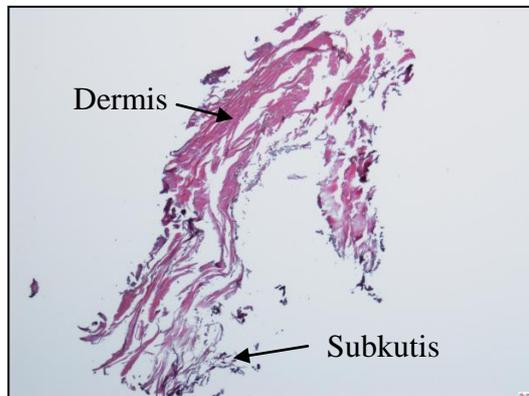


Abbildung 63: Piraino 18, Haut, Wiest et al., HE, x4

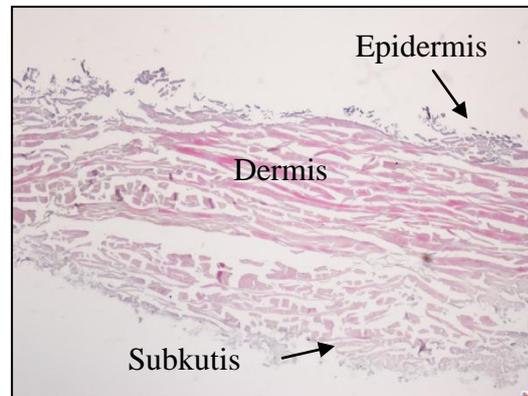


Abbildung 64: Piraino 18, Haut, Sandison, HE, x10

### 3.2.2.7 Bildvergleich des Strukturerhaltes bei unterschiedlicher Einwirkungszeit

Dieser Vergleich zeigt die Auswirkung der Einwirkzeiten vom Zeitpunkt nach der Fixierung bis zum Einbetten, wenn diese von 9h und 15min. auf 2 Stunden reduziert wird. Die Beschreibung der Ergebnisse finden sie weiter oben unter dem Punkt „3.2.2.5. Glycerin/4% Formaldehyd“.

## Ergebnisse

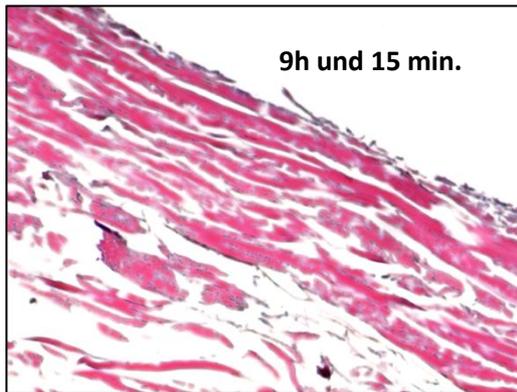


Abbildung 65: Piraino 18, Haut, Glycerin/ 4% Formaldehyde, HE

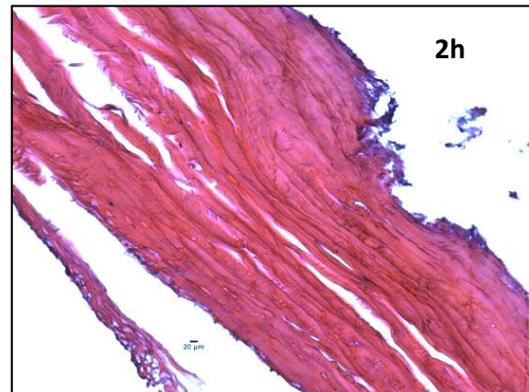


Abbildung 66: Piraino 18, Haut, Glycerin/ 4% Formaldehyde, HE

### 3.2.2.8 Bildvergleich bei unterschiedlicher Dehydrierungsdauer

Taucht man die Objektträger nach der Färbung nur kurz in die aufsteigende Alkoholreihe erzielt man ein besseres Ergebnis. Die genaue Prozedur ist im Kapitel „Methoden“ unter dem Punkt „2.12.3 Reduzierung der Dehydrierungszeiten“ nachlesbar.

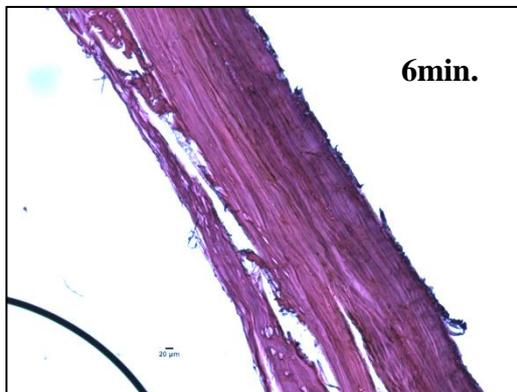


Abbildung 67: Piraino 18, Haut, Glycerin/ 4% Formaldehyde, HE

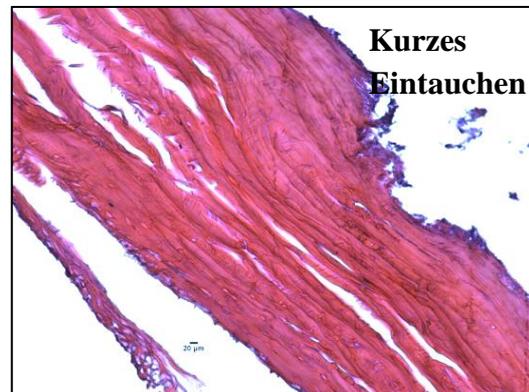


Abbildung 68: Piraino 18, Haut, Glycerin/ 4% Formaldehyde, HE

### 3.2.2.9 Bild zu den Besonderheiten

Das Bild der Mumienhaut aus Piraino (siehe Abb.: 69) zeigt PAS-positive Strukturen (Glycogenhaltiges Gewebe), eine genauere Diagnose kann nicht gestellt werden.

## Ergebnisse

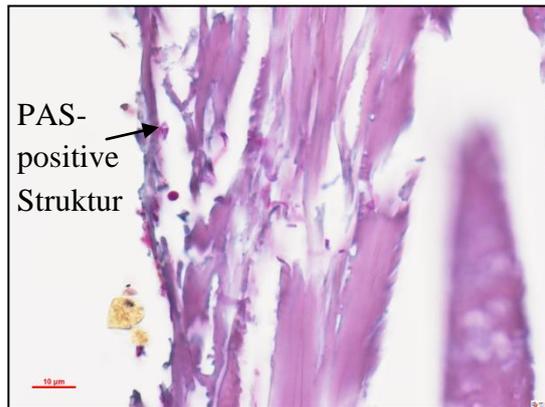


Abbildung 69: Piraino 18, Haut, NEG, PAS, x100

### 3.2.2.10 Zusammenfassung der Ergebnisse der Trockenmumie Piraino 18

Bezüglich des Erhaltungszustandes im Detail sind die Wiest et al. und die Solution III sehr gut und somit am besten erhalten. Die Sandison- und die Glycerin/ Formaldehyd Lösung haben mit „gut“ abgeschnitten. Die NEG hat zwar den besten Überblick, aber die schlechtesten Details im Vergleich (siehe Tabelle: 17). Zu den Besonderheiten können nur PAS- positive Strukturen erwähnt werden (siehe Abb.: 69).

Auffallend ist, dass die PAS Färbung bei allen Schnitten die Noten „gut“ oder „sehr gut“ erreichten. Die HE Färbung ist zwar bei allen Bildern gut nuanciert aber bei den Lösungen Solution III und Sandison zu blass, aber ausreichend. Die Giemsa Färbung war auf fast allen Bildern zu blass.

Beim „Bildvergleich des Strukturverlustes bei unterschiedlicher Einwirkungszeit“ fällt auf, dass bei Reduzierung der Einwirkzeiten auffallende Verbesserungen im Bezug des Strukturzusammenhaltes sichtbar sind. Auch die HE –Färbung des Schnittes mit der Glycerin/ Formaldehyd Rehydrierung zeigen durch reduzierte Zeiten der Dehydrierung nach dem Färben eine sehr gute Wirkung.

Die Epidermis der Schnitte ist nur durch das Str. granulosum erkennbar, die Dermis durch die kollagenen Fasern sehr gut gekennzeichnet und in der Subkutis ist das Fettgewebe eingelagert.

Die Tabelle 17 „Ergebnisse der Trockenmumie Piraino 18“ soll einen Überblick über die Benotung geben.

## Ergebnisse

Rehydrierung	Überblick/ Struktur- erhalt	Färbungen			Details	Besonder- heiten
		HE	PAS	Giemsa		
NEG						Abb. 69
Solution III						/
Wiest et al.						/
Sandison						/
Glycerin/ 4% Formaldehyd			/	/		/

Legende

<b>Mangelhaft</b>	<b>Ausreichend</b>	<b>Gut</b>	<b>Sehr gut</b>
-------------------	--------------------	------------	-----------------

Tabelle 17: Ergebnisse der Trockenmumie Piraino 18

### 3.2.3 Ergebnisse der natürlichen Eismumie

#### 3.2.3.1 NEG

Die Strukturübersicht der NEG Kontrolle mit der HE Färbung (siehe Abb.: 70) ist mangelhaft, das Str. basale ist durch vereinzelte Melanozyten zu lokalisieren. Kollagene Fasern und Fettzellen sind unregelmäßig über den gesamten Schnitt verteilt, auch Zellschichtgrenzen kann man keine finden. Die PAS Färbung bietet einen etwas besseren Überblick, wobei hier Teile der Subkutis mit den Fettzellen gut abgebildet sind. Details sind gut erhalten, dies ist an den Fettzellen im Gewebe zu sehen (siehe Anhang: Natürliche Eismumie, NEG, PAS- Färbung, x 40).

Die HE- und die PAS Färbung ist sehr intensiv, die Giemsa blass (siehe Anhang: Natürliche Eismumie, NEG, HE, PAS und Giemsa).

### **3.2.3.2 Solution III**

Die Struktur der Hautprobe mit der Solution III Rehydrierung ist gut erhalten (siehe Abb.: 71). Allerdings hat sich die Epidermis, bis auf das Stratum basale, gänzlich abgelöst und ist nicht mehr vorhanden. Im Stratum papillare und retikulare der Dermis findet man Einlagerungen von Fettzellen, welches ein typisches Kennzeichen für die Fettwachsbildung bei Eismumien zeigt. Die Grenze zwischen Epidermis und Dermis und Dermis und Subkutis ist gut erkennbar, trotzdem fallen die Details mangelhaft aus (siehe Anhang: Natürliche Eismumie, Solution III, HE- Färbung x40).

Die HE- und die PAS Färbung sind „sehr gut“ und die Giemsa „mangelhaft“ ausgefallen (siehe Anhang: Natürliche Eismumie, Solution III, HE, PAS und Giemsa).

### **3.2.3.3 Wiest et al.**

Beim Schnitt mit der Beschriftung „Haut, Wiest et al, HE Färbung, x 4“ der Abbildung „72“ ist es schwierig eine gut gegliederte Struktur zu erkennen, auch die Details sind mangelhaft dargestellt (siehe Anhang: Natürliche Eismumie, Wiest et al., HE- Färbung, x40). Auffallend sind die stark gefärbten Kollagenfasern und die eingelagerten Fettzellen in der Dermis.

Die HE Färbung hat „gut“, die PAS „sehr gut“ und die Giemsa „ausreichend“ funktioniert (siehe Anhang: Natürliche Eismumie, Wiest et al., HE, PAS und Giemsa).

### **3.2.3.4 Sandison**

Die Sandison Rehydrierung ist sehr mangelhaft ausgefallen, keine Struktur ist sichtbar (siehe Abb.: 73). Die dunkelviolette Färbung lässt Teile das Str. granulosum erkennen. Die Dermis ist sehr zerrissen, die Subkutis schwach zu erahnen und feine Strukturen bleiben auch aus.

Die He-, PAS- und die Giemsa Färbung ist in dieser Reihenfolge „ausreichend“, „gut“ und „mangelhaft“ (siehe Anhang: Natürliche Eismumie, Sandison, HE, PAS und Giemsa).

### **3.2.3.5 Bildvergleich des Strukturvergleiches**

Vergleicht man die Strukturen der Hautgewebe (siehe Abb.: 70-73), so fällt gleich auf, dass Aufbau der Haut bei fast allen Schnitten, ausgenommen die Solution III (siehe

## Ergebnisse

Abb.: 71), schlecht zu erkennen ist.

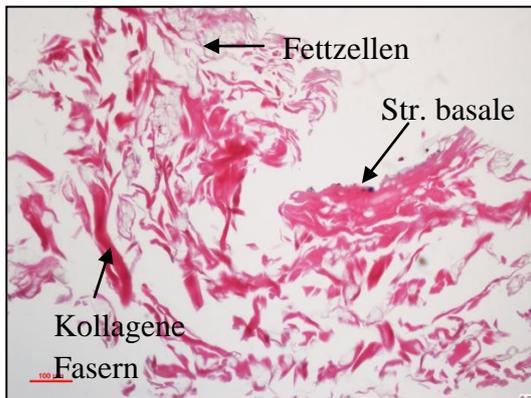


Abbildung 70: Natürl. Eismumie, Haut, NEG, HE, x10

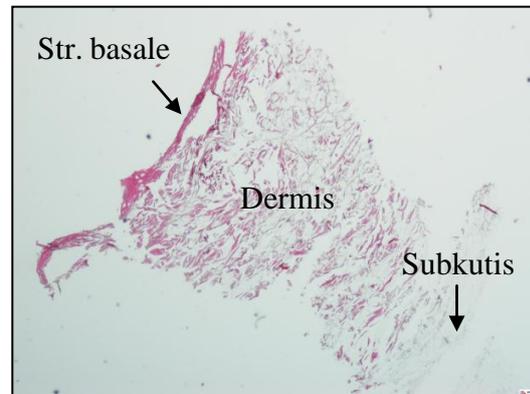


Abbildung 71: Natürl. Eismumie, Haut, Solution III, HE, x4

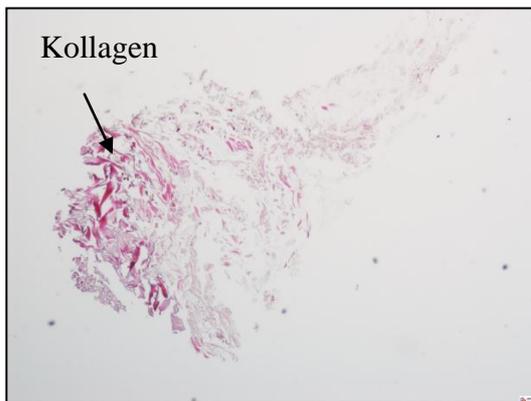


Abbildung 72: Natürl. Eismumie, Haut, Wiest et al., HE, x4

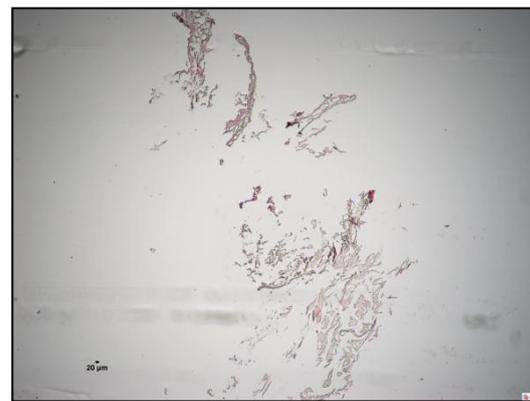


Abbildung 73: Natürl. Eismumie, Haut, Sandison, HE, x4

### 3.2.3.6 Bilder zu den Besonderheiten

Die Bilder zeigen Veränderungen der Gewebsstruktur. Das Foto „74“ und „75“ zeigen dieselbe abnormale Einschließung. Die Abbildung „76“ zeigt wahrscheinlich dieselbe Einschnürung, nur ist keine äußere Blase zu sehen. Die Kugelige Struktur der Abbildung „75“ mit der Giemsa-Färbung hat eine Größe von ca. 16µm und liegt in einer Blase von ca. 25µm Länge. Eine genauere Diagnose kann nicht gestellt werden.

## Ergebnisse

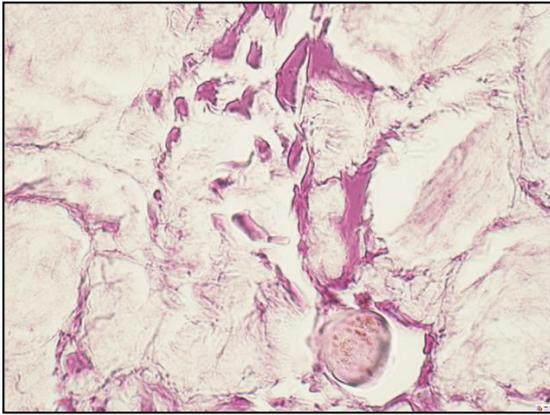


Abbildung 74: Natürl. Eismumie, Haut, NEG, PAS, x100

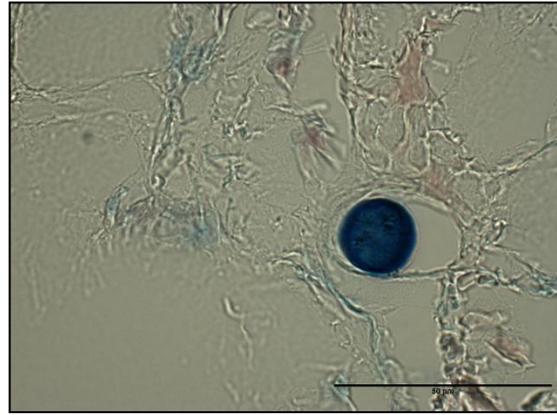


Abbildung 75: Natürl. Eismumie, Haut, NEG, Giemsa, x100

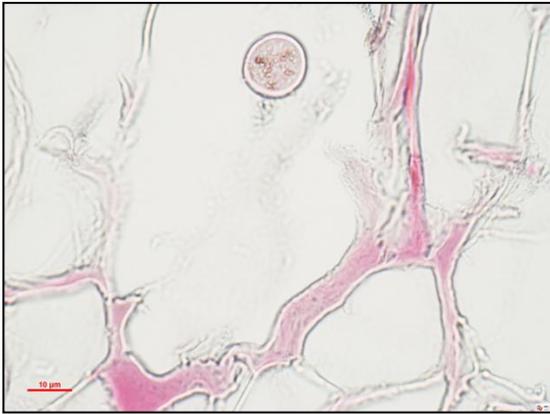


Abbildung 76: Natürl. Eismumie, Haut, Solution III, HE, x100

### 3.2.3.7 Zusammenfassung der Ergebnisse der natürlichen Eismumie

Die Probe mit der Solution III ist bezüglich des Strukturüberblickes gut erhalten (siehe Abb. 71), alle anderen Schnitte dieser natürlichen Eismumie sind diesbezüglich mit „mangelhaft“ zu benoten( siehe Abb.: 70, 72, 73).

Die HE und die PAS Färbung sind insgesamt „sehr gut“ bis „gut“ ausgefallen, ausgenommen die Sandison Lösung, diese hat bei der HE Färbung ein „ausreichend“ bekommen. Die Feinstrukturierung ist nur im Schnitt mit der „negativ Kontrolle“ gut, alle anderen sind mangelhaft erhalten.

In allen Schnitten sind das Kollagen und die Fettzellen sehr gut erhalten.

Auffallend sind bei fast allen Schnitten die Einlagerung von Fettzellen in der oberen

## Ergebnisse

Dermis, ein typisches Kennzeichen für natürliche Eismumien, auch Fettwachsbildung genannt. Als einzige Besonderheit ist noch der kugelige Einschluss in der Blase zu erwähnen, leider kann keine spezifische Aussage über eine mögliche Pathologie getroffen werden (siehe Abb.: 74, 75 und 76).

Rehydrierung	Struktur- überblick	Färbungen			Details	Besonder- heiten
		HE	PAS	Giemsa		
NEG						Abb. 74, 75
Solution III						Abb. 76
Wiest et al.						/
Sandison						/

Legende

Mangelhaft	Ausreichend	Gut	Sehr gut
------------	-------------	-----	----------

Tabelle 18: Ergebnisse der natürlichen Eismumie

### 3.2.4 Ergebnisse der künstlichen Eismumie Ötzi 3

#### 3.2.4.1 NEG

Der Schnitt mit der negativ Kontrolle gibt zwar keinen guten Überblick, da nicht alle Schichten aufgezogen wurden, aber die Struktur, welche zu sehen ist, ist sehr gut erhalten, auch wenn man sie im Detail anschaut (siehe Abb.: 77). Vom Stratum basale der Epidermis ist nur ein kleiner Teil übrig. Die Dermis ist an manchen Stellen gerissen. Subkutis ist keine zu erkennen (siehe Abb.: 77).

Die Färbungen haben alle, bis auf die Giemsa mit „sehr gut“ abgeschlossen (siehe Anhang: Ötzi 3, NEG, HE, PAS, Giemsa).

### **3.2.4.2 Solution III**

Mit der Solution III ist ein sehr guter Schnitt gelungen (siehe Abb.: 78). Die gesamte Epidermis ist vorhanden, vom Stratum corneum ist aber nur ein kleiner Teil zu sehen. Melanozyten liegen in den beiden Strati der Epidermis. Die zwei Schichten der Dermis erkennt man an der unterschiedlichen Struktur, Subkutis ist keine vorhanden. Im Detail sind die Strukturen sehr gut zu sehen, besonders die Melanozyten mit den eingelagerten Pigmenten sind sehr schön erhalten (siehe Abb.: 82, 83, 84), erstaunlicherweise sind auch Epithelzellen erhalten (siehe Abb.: 85).

Die HE- und die PAS Färbung haben „sehr gut“ und die Giemsa „gut“ funktioniert (siehe Anhang: Ötzi 3, NEG, HE, PAS, Giemsa).

### **3.2.4.3 Wiest et al.**

Durch die blasse He Färbung ist der Schnitt mit der Wiest et al. Rehydrierung schwierig zu beurteilen. Mit der PAS Färbemethode ist die Struktur sehr gut angefärbt und deshalb auch sehr gut zu sehen, aus diesem Grund findet man im unten angeführten „3.2.4.5 Bildvergleich des Strukturerhaltes“ die PAS-Färbung und nicht die HE-Färbung (siehe Abb.: 79). Das Str. granulosum, das Str. spinosum und das Str. basale kennzeichnen die Epidermis. Im Str. spinosum und Str. basale kommen reichlich Melanozyten vor. Schaut man die Details an, so sieht man sehr schön die braunen Melanozyten und die Fettzellen (siehe PAS- Färbung, x100). Die zwei Schichten der Dermis, das Str. papillare und das Str. retikulare sind ohne Probleme gut zu unterscheiden. Die Subkutis grenzt an das Stratum retikulare (siehe Abb.: 79).

Die HE-Färbung hat „mangelhaft“, die PAS „sehr gut“ und die Giemsa „ausreichend“ angefärbt (siehe Anhang: siehe Anhang: Ötzi 3, Wiest et al., HE, PAS, Giemsa).

### **3.2.4.4 Sandison**

Der Schnitt mit der Sandison Rehydrierung ist sehr gut erhalten (siehe Abb.: 80). Die Epidermis ist an ihren drei letzten Schichten, dem Str. granulosum, dem Str. spinosum und dem Str. basale, wobei das Str. granulosum leicht abgelöst ist. Im Str. spinosum und dem Str. basale sind wieder viele Melanozyten mit den darin enthaltenen Melaningranula wunderbar zählbar (siehe Abb.: 84). Die zwei Dermis Schichten kann man gut sehen und auch die Subkutis mit den Fettzellgruppen ist sehr gut abgebildet.

## Ergebnisse

Die HE Färbung ist sehr intensiv, auch in der Farbnuancierung gut gelungen und schneidet deshalb „sehr gut“ ab (siehe Anhang: Ötzi 3, Sandison, HE).

Die PAS Färbung hat auch sehr gute Ergebnisse gebracht (siehe Anhang: Ötzi 3, Sandison, PAS). Aufgrund der negativen Ergebnisse der Giemsa Färbung wurde diese nicht mehr angewendet und deshalb unten in der Tabelle „19“ mit einem Querstrich versehen.

### 3.2.4.5 Bildvergleich des Strukturverlustes

Die Struktur der künstlichen Mumie ist sehr gut erhalten, an manchen Stellen ist fast die ganze Epidermis noch vorhanden.

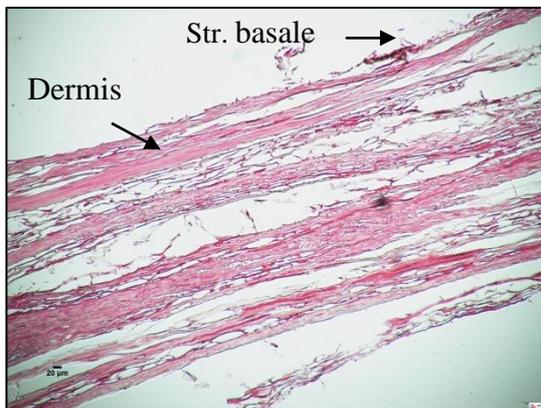


Abbildung 77: Ötzi 3, Haut, NEG, HE, x10

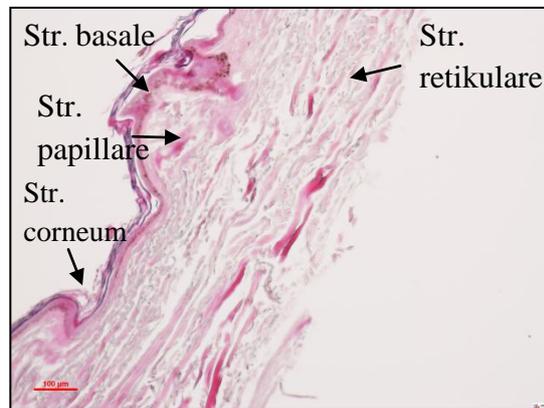


Abbildung 78: Ötzi 3, Solution III, HE, x10

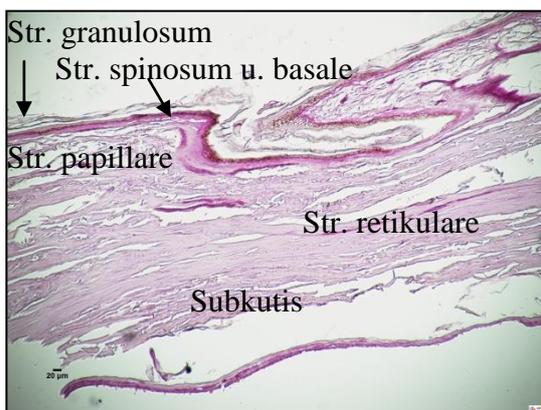


Abbildung 79: Ötzi 3, Haut, Wiest et al, PAS, x10

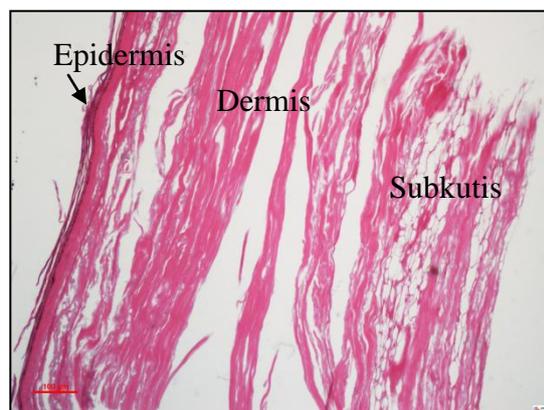


Abbildung 80: Ötzi 3, Haut, Sandison, HE, x10

## Ergebnisse

### 3.2.4.6 Bilder zu den Details

Die Details sind außerordentlich gut zu sehen, vor allem die pigmenthaltigen Melanozyten in den Abbildungen „82, 83, 84“ und „85“ sind hervorragend erhalten.

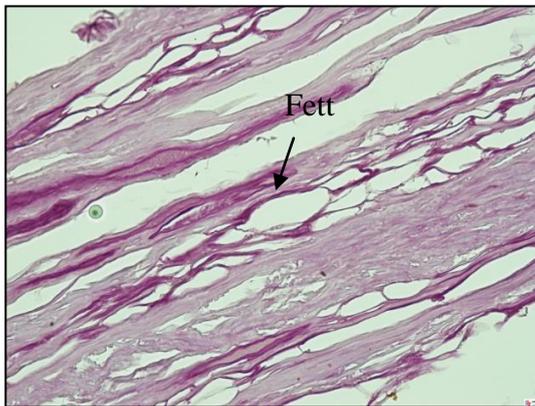


Abbildung 81: Ötzi 3, Haut, NEG, PAS, x40

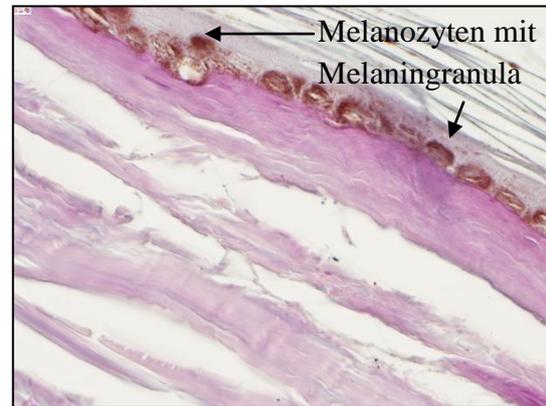


Abbildung 82: Ötzi 3, Haut, Solution III, PAS, x100

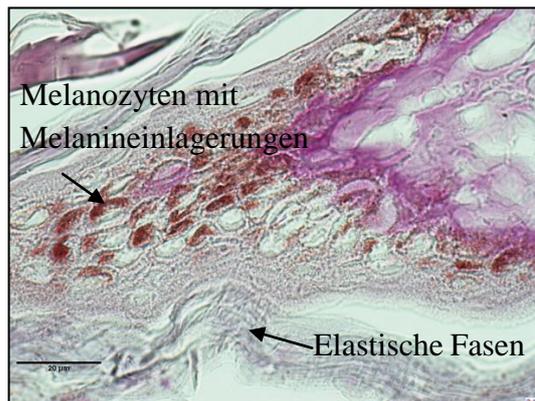


Abbildung 83: Ötzi 3 Haut, Wiest et al., PAS, x100

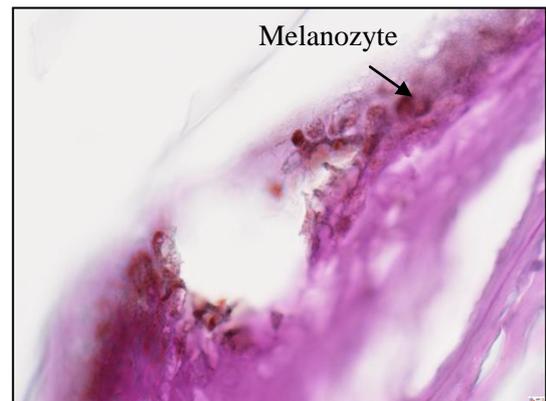


Abbildung 84: Ötzi 3, Haut, Sandison, PAS, x100



Abbildung 85: Ötzi 3, Haut, Solution III, HE, x100

### 3.2.4.7 Bilder zu den Besonderheiten

Vergrößert man das Foto der Abbildung „86“, so kann man rote Punkte erkennen. Weitere Erklärungen können im Kapitel „Diskussion“ unter dem Punkt „4.6.2 Hautprobe der künstlichen Eismumie“ nachgelesen werden.

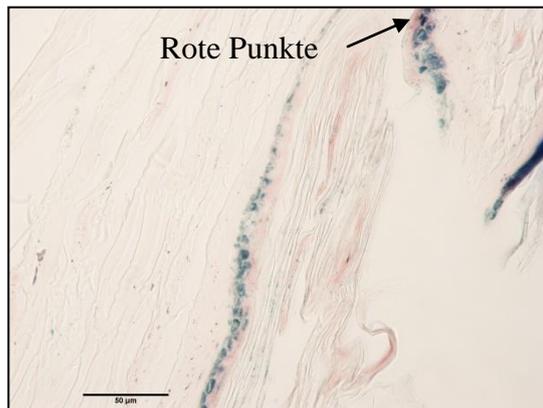


Abbildung 86: Ötzi 3, Haut, Solution III, Giemsa, x40

### 3.2.4.8 Zusammenfassung der Ergebnisse der künstlichen Eismumie Ötzi 3

Die Gewebsstruktur dieser künstlich mumifizierten Eisleiche ist sehr gut erhalten. Alle drei Hautschichten sind erhalten, wobei die letzte Schicht der Epidermis, das Str. corneum nur teilweise zu sehen ist. Im Str. basale sind viele Melanozyten mit eingelagerten Melaningranula zu beobachten. Dies ist die Einzige der untersuchten Proben, bei der Epithelzellen zu sehen sind. Bei allen Rehydrierungslösungen ist die Struktur im Detail sehr gut zu erkennen. Sensationell sind die rot-violetten Strukturen der Giemsa-Färbung im Bild „86“ (nur durch Vergrößerung sichtbar), möglicherweise ist aufgrund der sehr gut erhaltenen Struktur noch DNA erhalten. Die beiden Färbungen HE und PAS sind auch, bis auf eine Ausnahme (siehe Tabelle 19), sehr gut ausgefallen. Die Giemsa Färbung ist auch hier ausnahmsweise bei der Solution III gut ausgefallen, bei der Negativ Kontrolle mangelhaft und bei der Wiest et al. Lösung ausreichend. Bei der Sandison Variante wurde auf die Giemsa verzichtet, da diese Färbung in den vergangenen Untersuchungen meist mangelhaft war.

## Ergebnisse

Rehydrierung	Struktur- überblick	Färbungen			Details	Besonderheiten
		HE	PAS	Giemsa		
NEG						/
Solution III						Abb. 86
Wiest et al.						/
Sandison				/		/

Legende

<b>Mangelhaft</b>	<b>Ausreichend</b>	<b>Gut</b>	<b>Sehr gut</b>
-------------------	--------------------	------------	-----------------

Tabelle 19: Ergebnisse der Künstlichen Eismumie Ötzi 3

### 3.2.5 Rezente Haut

Die rezente Hautprobe bietet einen schönen Überblick der drei Hauptschichten, der Epidermis, der Dermis und der Subkutis (siehe Abb.:87). In den beiden Strati der Dermis liegen Schweiß- und Talgdrüsen (siehe Abb.: 88 und 89). Die Melanozyten der Epidermis kann man auch sehr gut erkennen (siehe Abb.: 91). Das Bindegewebe erscheint rosa, Muskelfasern zeigen sich in einer leichten grauen Färbung. Epithelzellen mit Zellkernen liegen in der Epidermis verstreut (siehe Abb.: 91).

## Ergebnisse

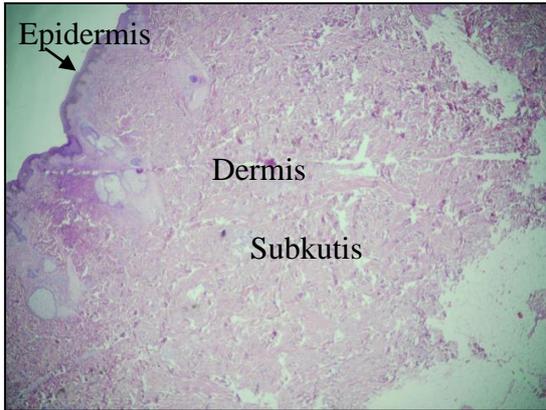


Abbildung 87: Rezente Haut, HE, x2



Abbildung 88: Rezente Haut, HE, x4

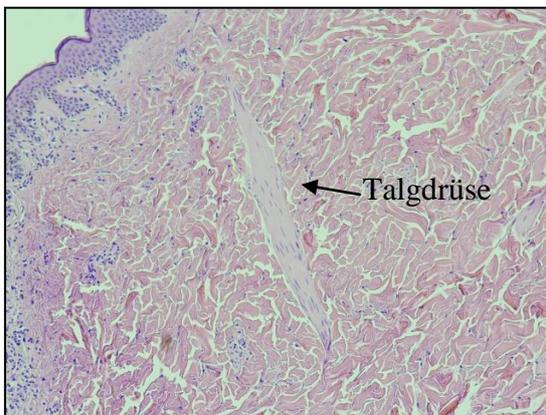


Abbildung 89: Rezente Haut, HE, x10

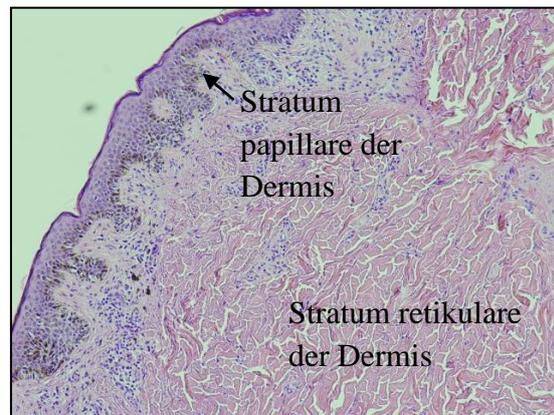


Abbildung 90: Rezente Haut, HE, x10

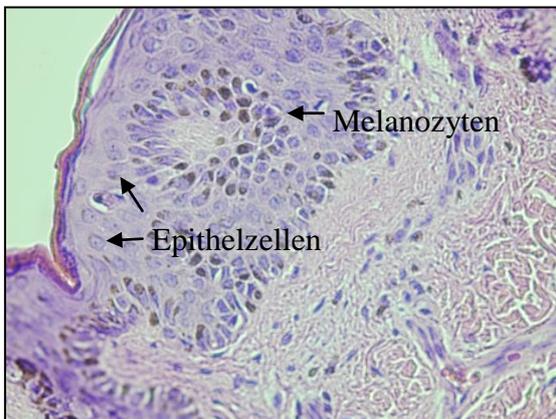


Abbildung 91: Rezente Haut, HE, x10

### **3.2.7 Zusammenfassung der Hautproben**

Diese Zusammenfassung bezieht sich auf die noch sichtbaren Strukturen aller untersuchten Hautproben. Über den Strukturverlust aller Proben bezüglich der Rehydrierung wird unten im Diagramm „1“ im Detail eingegangen.

Alle drei Hautproben haben unterschiedliche Ergebnisse gebracht. Die Haut der künstlich präparierten Eismumie ist am besten erhalten, die Details konnten mit allen Rehydrierungslösungen sehr gut dargestellt werden. Alle drei Hauptschichten, eine vollständige Epidermis, Melanozyten mit Pigmenteinlagerungen und sogar Epithelzellen sind vorhanden, diese Probe sieht rezentem Material sehr ähnlich. Die Hautprobe der Mumie aus Piraino besteht noch aus allen Hautschichten, wobei die Epidermis nur mehr am Str. granulosum zu erkennen ist. Mit der Giemsa-Färbung konnten beim Schnitt „Piraino 18, Haut, NEG, x100 (Abb.: 69) rosa-violette, also PAS-positive Strukturen nachgewiesen werden (siehe: 4.6.1 Hautprobe der Trockenmumie aus Piraino). Die natürliche Eismumie hat allgemein einen schlechten Erhaltungszustand, nur die Solution III ermöglichte einen guten Überblick über die Struktur. Die Fettzellen im Bild der „negativ Kontrolle“ konnten im Detail gut dargestellt werden. Auffallend bei der künstlichen Eismumie war die Fettwachsbildung in der Dermis. Bei allen Proben sind das Kollagen und die Fettzellen sehr gut erhalten. Schweiß- oder Talgdrüsen konnten in keiner der untersuchten mumifizierten Hautproben identifiziert werden.

## **3.3 Ergebnisse der Zweeloo Frau**

### **3.3.1 Knöchernes Material**

Die meisten Moorleichen haben ein decalcifiziertes Skelett, dies hat eine Deformation der Knochen zur Folge. Der Erhaltungszustand dieses knöchernen Materials ist gut konserviert, man kann Haversianische Kanäle und Lamellen sehen (siehe Abb.: 93). Der Knochen wurde nicht eingefärbt, da der Torf an sich schon eine sehr starke

## Ergebnisse

Färbeeigenschaft durch die torftypischen Huminstoffe hat, sodass jede andere Färbung zu schwach wäre um ein zufrieden stellendes Ergebnis zu erzielen.



Abbildung 92: Zweeloo Frau, Knochen

Abbildung 93: Zweeloo Frau, Knochen

### 3.3.2 Rezenter Knochen

Bei diesem rezenter Knochen sind die Lamellen längs geschnitten und nicht quer, wie der Knochen der Zweeloo Frau. Im Knochenmark sind Fettzellen (siehe Abb.: 95) und andere zelluläre Strukturen, wie unterschiedliche Granulozyten, Erythroblasten (siehe Abb.: 97), Megakaryozyten (größte Zellen; siehe Abb.: 96) eingelagert. Eine pathologische Veränderung ist in Form eines lymphozytären Infiltrates sichtbar (siehe Abb.: 95)

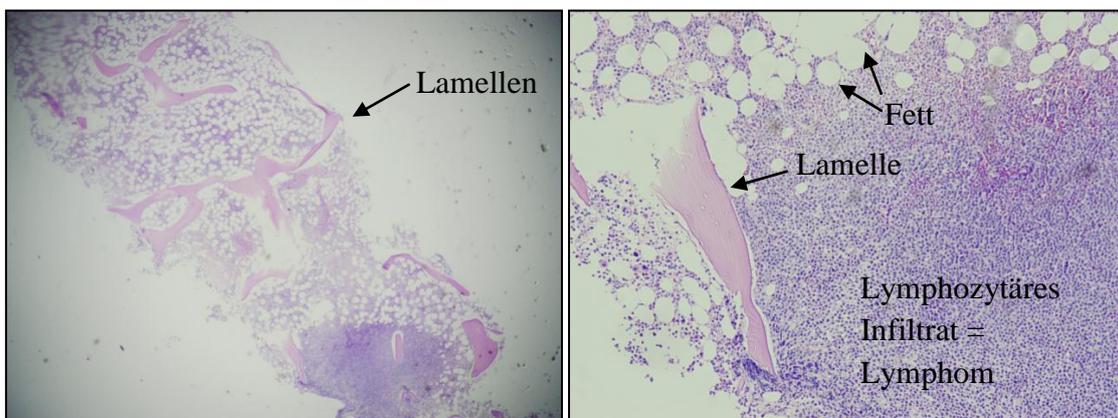


Abbildung 94: Rezenter Knochen, HE, x2

Abbildung 95, Rezenter Knochen, HE, x10

## Ergebnisse

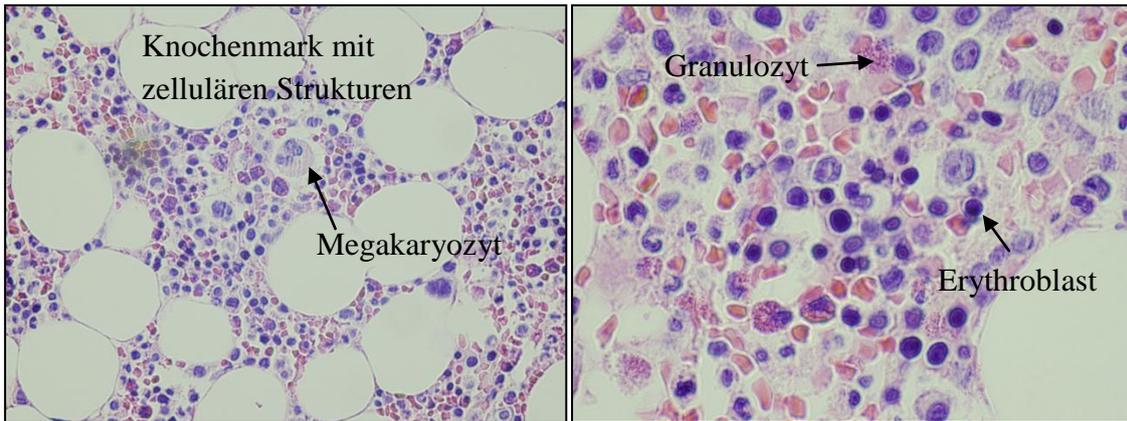


Abbildung 96: Rezenter Knochen, HE, x40

Abbildung 97: Rezenter Knochen, HE, x100

### 3.3.3 Niere

Die Niere wurde mit Solution III rehydriert (48h), mit 4%igem Formaldehyd fixiert (24h), dehydriert, eingebettet, geschnitten und mit der Gram-Färbung koloriert.

Die histologischen Schnitte der Niere zeigen einen sehr guten Erhalt der Struktur, typische Regionen wie Cortex (Nierenrinde) und Pelvis (Nierenbecken) kann man sehr gut differenzieren (siehe Abb.: 100). Untersucht man den Schnitt im Detail, so erkennt man gefäßähnliche Strukturen, die Tubuli (siehe Abb.: 99).



Abbildung 98: Zweeloo Frau, Niere

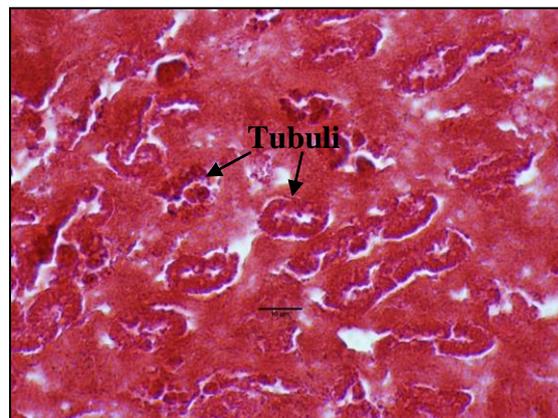


Abbildung 99: Zweeloo Frau, Niere, Solution III, Gram

## Ergebnisse

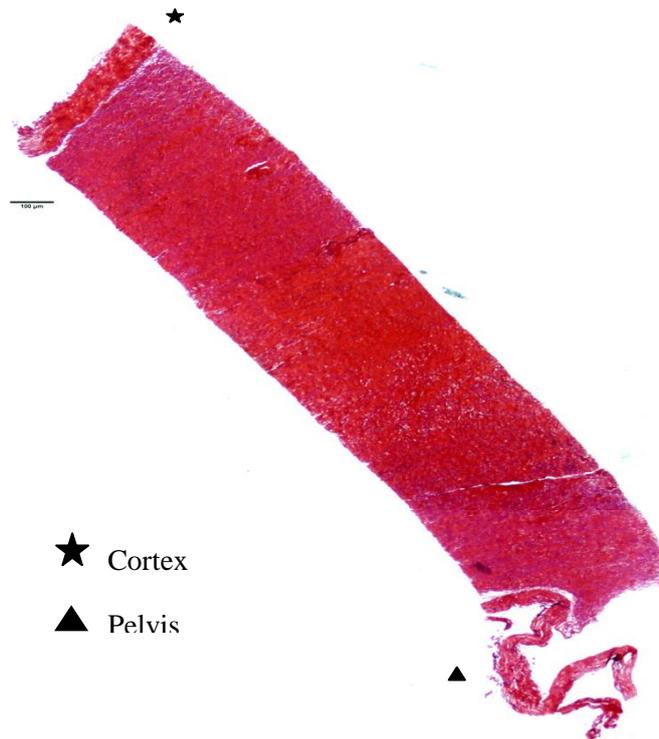


Abbildung 100: Zweeloo Frau, Niere, Solution III, Gram

### 3.3.4 Rezente Niere

Das Übersichtsbild zeigt die Nierenkapsel, die Nierenrinde (Cortex) und das etwas dunklere Nierenmark (Medula renalis) (siehe Abb.: 101). Im Cortex liegen Glomeruli, Blutgefäße umschlossen von einem Muskel und zahlreiche Tubuli im Längs- und Querschnitt (siehe Abb.: 102 und 103). Die Zellkerne sind blau und das Bindegewebe rosa gefärbt. Im Blutgefäß sind differenziert kolorierte Blutzellen sichtbar (siehe Abb.: 102).

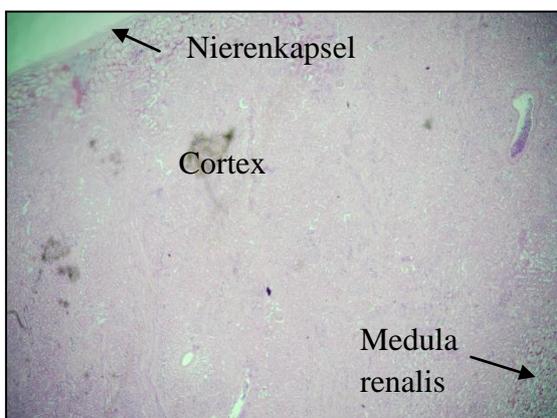


Abbildung 101: Rezente Niere, HE, x2

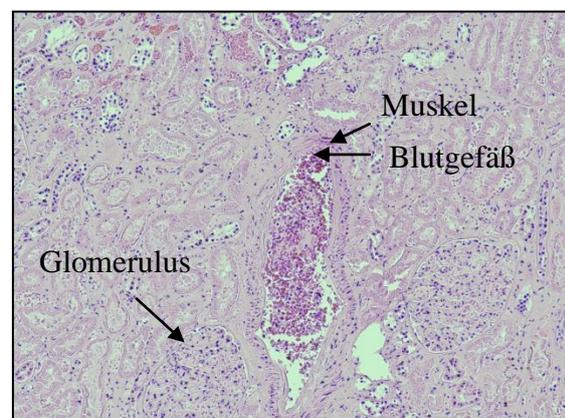


Abbildung 102: Rezente Niere, HE, x10

## Ergebnisse

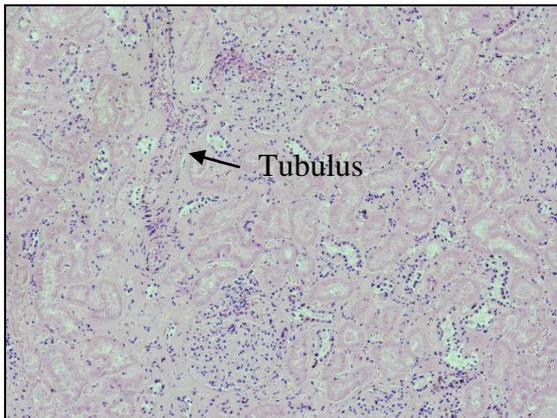


Abbildung 103: Rezente Niere, He, x10

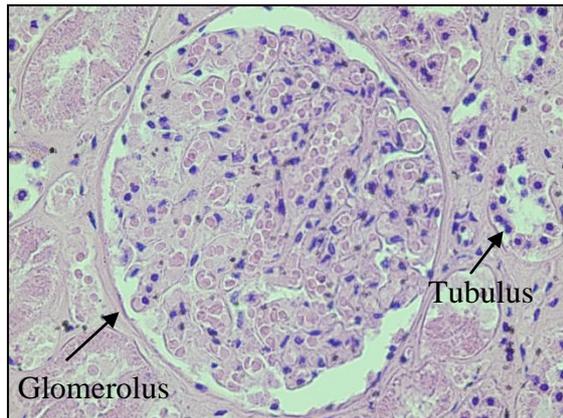


Abbildung 104: Rezente Niere, HE, x40

### 3.3.5 Leber

Im Vergleich zur Niere, ist die Leber nicht allzu gut erhalten, dennoch kann man das Leberparenchym mit den polygonalen Hepatozyten vom Bindegewebe klar differenzieren. In der Abbildung „105“ kann man ein Gefäß erkennen.

#### 3.3.5.1 Pathologie der Leber

Im Lebergewebe befinden sich Eier des „Kleinen Leberegels“, auch *Dicrocoelium dendriticum* genannt (siehe Abb.: 106). Dieser Parasit lebt in zwei Zwischenwirten, beim Endwirt wird die infektiöse Krankheit „*Dicrocoeliasis*“ ausgelöst.

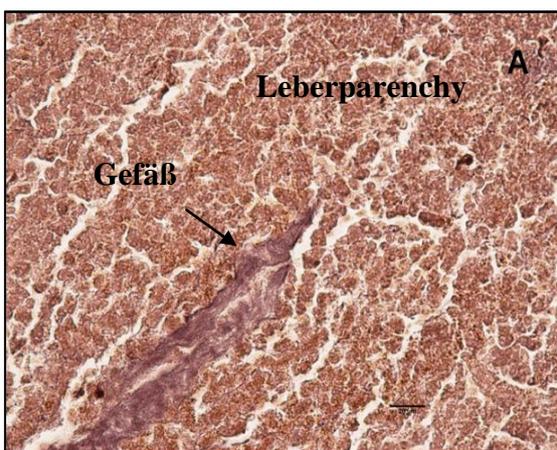


Abbildung 105: Zweeloo Frau, Leber, Solution III, HE

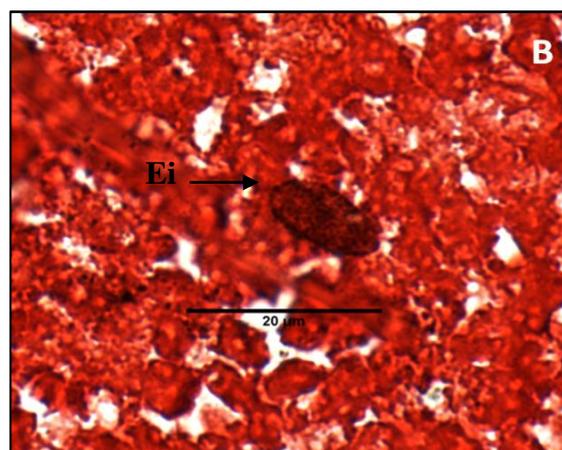


Abbildung 106: Zweeloo Frau, Leber, Solution III, Gram

## Ergebnisse

### 3.3.6 Rezente Leber

Das Übersichtsbild zeigt das Leberparenchym (siehe Abb.: 107), in der vergrößerten Aufnahme sind zelluläre Strukturen sehr gut zu erkennen, auch die Differenzierung zwischen gesundem und pathogenem Gewebe ist aufgrund der differenzierten Färbung der Hepatozyten möglich (siehe Abb.: 109). Das Portalfeld mit dem Glisson-Trias inclusive Pfortader, Leberarterie und dem kleinen Gallengang sind sehr gut dargestellt (siehe Abb.: 108).



Abbildung 107: Rezente Leber, HE, x4

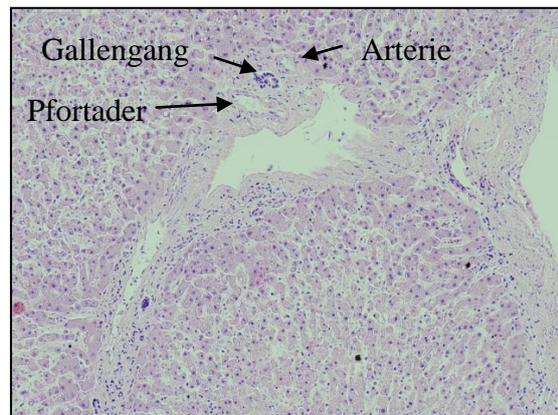


Abbildung 108: Rezente Leber, HE, x10

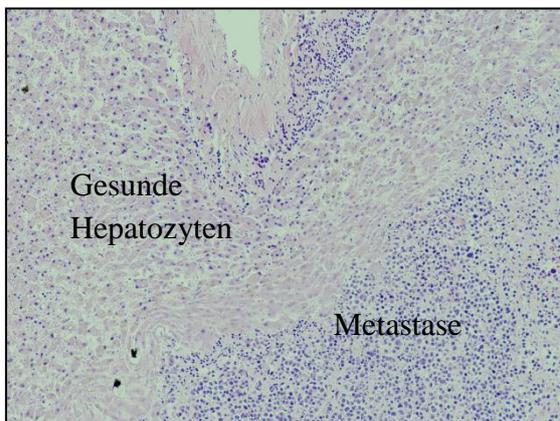


Abbildung 109: Rezente Leber, HE, x10

Die nachstehende Tabelle 20 „Ergebnisse der Zweeloo Frau“ fasst alle Ergebnisse der Nierer, der Leber und des Knochens der Moorleiche zusammen.

## Ergebnisse

Gewebe	Rehydrierung	Rehydrierungs- qualität	Struktur- überblick	Färbungen			Detail
				HE	PAS	GRAM	
Niere	Solution III			/	/		
Leber	Solution III				/		
Knochen		/		/	/	/	

Legende

<b>Mangelhaft</b>	<b>Ausreichend</b>	<b>Gut</b>	<b>Sehr gut</b>
/	Nicht vorhanden		

Tabelle 20: Ergebnisse der Zweeloo Frau

### 3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse aller Proben bezüglich des Erhaltungszustandes

Da der Focus dieser Arbeit auf den Erhaltungszustand der Mumien gerichtet ist, sieht man in den unten angeführten Diagrammen die Ergebnisse des Strukturerhaltes und der Details zusammengefasst. Auf die Färbungen wird nicht näher eingegangen, sie dienen zum Zweck, Strukturen zu erkennen und werden hier nicht zusammengefasst dargestellt. Die Qualität der Färbungen wird im Vergleich mit rezenten Proben im Kapitel „Diskussion“ beschrieben.

Das Diagramm „Strukturerhalt aller Proben“ sammelt alle Daten der Lunge, der Haut, der Niere, der Leber und des Knochens bezüglich des Strukturerhaltes aller Proben und der dazu verwendeten Rehydrierungen. Der Knochen wurde wie alle anderen Kontrollproben nicht rehydriert und wird deshalb in der Kategorie „NEG“ benotet.

Die Solution III ermöglicht bei den Proben „Piraino 6, Künstliche Eismumie, Zweeloo Frau (Niere und Leber)“ einen sehr guten Überblick über die Struktur, bei der natürlichen Eismumie und bei der Hautprobe von der Mumie aus Piraino bringt sie einen guten Überblick. Die Glycerin 4%/ Formaldehyd- Lösung zeigt einen sehr guten

## Ergebnisse

Erhalt der Struktur. Erstaunliche Ergebnisse brachte die „negativ Kontrolle“, die Hautprobe aus Piraino und die künstliche Eismumie haben ohne Rehydrierung trotzdem einen sehr gut erhaltenen Aufbau der Struktur nachzuweisen. Die Wiest et al. Lösung hat nur bei der Künstlichen Eismumie sehr gute Ergebnisse gebracht, bei der Lunge aus Piraino 6 ist das Ergebnis gut, bei allen anderen ist die Übersicht mangelhaft. Die Sandison Lösung schneidet insgesamt am schlechtesten ab, ausgenommen bei der künstlichen Eismumie hat sie einen sehr guten Überblick gebracht.

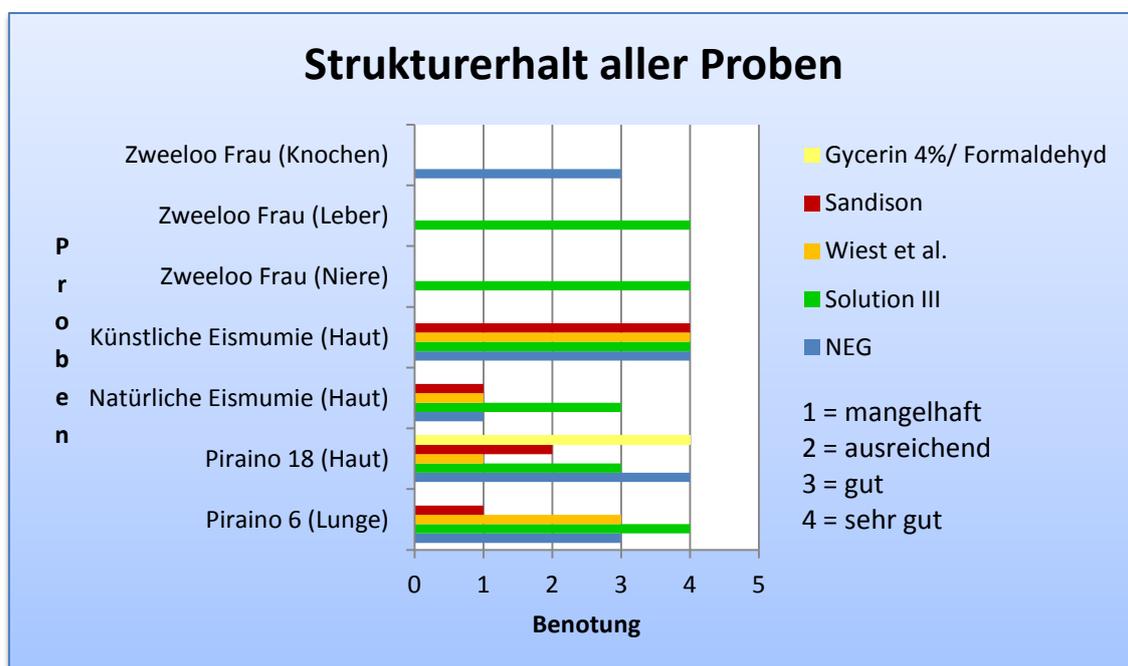


Diagramm 1: Strukturerhalt aller Proben

Das Diagramm „Details aller Proben“ fasst alle Ergebnisse bezüglich der Feinstrukturierung zusammen. Auch hier wird der Knochen wie die negativ Kontrollen bewertet.

Die Solution III und die Wiest et al. schaffen es bei fast allen Proben sehr gute Details zu zeigen. Die Künstliche Eismumie hat bei allen Lösungen bestens erhaltene Details. Die Lunge aus Piraino ist, bis auf die Rehydrierung mit der Sandison, auch im Detail sehr gut erhalten. Der Knochen der Zweeloo Frau ist im Vergleich zu rezenten

## Ergebnisse

Knochenproben sehr gut erhalten. Am schlechtesten sind die Details der natürlichen Eismumie zu sehen, wobei die „negativ Kontrolle“ hier noch gute Ergebnisse bringt.

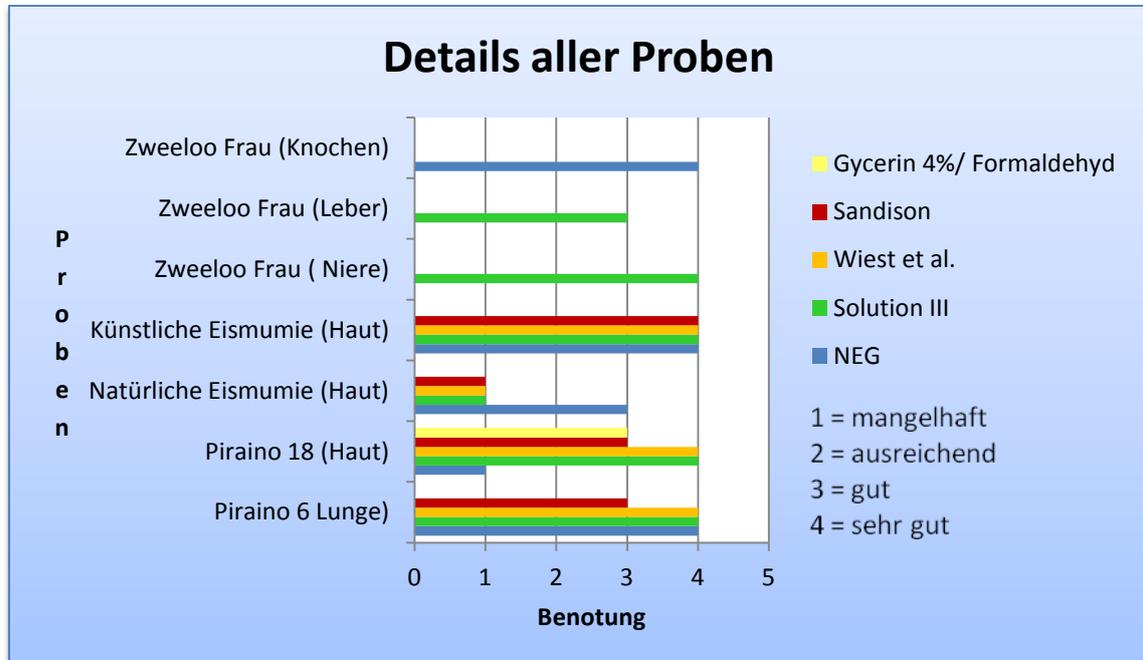


Diagramm 2: Details aller Proben

### 3.5 Fazit

Der Erhaltungszustand der Haut der künstlichen Eismumie, der Lungenprobe aus Piraino, der Hautprobe aus Piraino, der Niere und des Knochens der Zweeloo Frau sind in ihrer feinen Struktur sehr gut erhalten. Für die Rehydrierung eignen sich am besten die Solution III und die Wiest et al. Allerdings sind die Ergebnisse der „Negativ Kontrolle“ überraschend positiv ausgefallen, sodass sich ein Überdenken der Notwendigkeit der Rehydrierung in manchen Fällen wohl lohnt. Es empfiehlt sich auf jeden Fall, bei histologischen Untersuchungen antiker Gewebe immer eine negative Kontrolle zu den gewählten Rehydrierungen zu machen.

### 4 Diskussion

Vergleicht man die Histologie mit der Paläohistologie, so fällt auf, dass die Paläohistologie durch unbeeinflussbare, exogene Faktoren, aber auch durch beeinflussbare Faktoren in ihrer Aussagekraft bezüglich des Erhaltes der Feinstruktur limitiert ist. In der modernen Histologie werden frische Gewebe bearbeitet und analysiert, die Paläohistologie hingegen beschäftigt sich mit antikem Gewebe. Die zum Teil schon 5000 Jahre alten Mumien weisen im Vergleich zu frischem Gewebe veränderte Eigenschaften auf, welche die Ergebnisse schlussendlich beeinflussen und die Aussagekraft einschränken. Dabei spielen die Dekompositionsprozesse eine große Rolle, denn je schneller ein Leichnam mumifiziert, desto schneller kann der Abbau des Gewebes gestoppt werden und desto besser bleibt das Gewebe erhalten. Die Dekompositionsprozesse werden später genauer durchleuchtet.

Die Pathologen orientieren sich bei der Bestimmung von krankhaften Veränderungen in der Gewebsstruktur an den Zellen und deren Veränderung [SCHROFFENEGGER, 2012]. Die histologischen Schnitte antiker Proben weisen sehr selten erhaltene Zellen auf, daher ist es auch schwierig eine verlässliche Aussage über Pathologien zu fällen und die Möglichkeit einer Pseudopathologie besteht. Aufderheide beschreibt Pseudopathologien als Artefakte, welche z.B. durch die Lagerung, Tierfraß oder durch die Chemie des Bodens, Veränderungen am Gewebe verursachen [AUFDERHEIDE, 1981].

Die Ergebnisse werden nicht nur von unbeeinflussbaren Faktoren beeinträchtigt, sondern auch von beeinflussbaren Faktoren, nämlich die der Verarbeitung. In dieser Studie wird sichtbar, welchen Einfluss die Rehydrierungen, die Fixierung und die diversen Färbemethoden auf die unterschiedlichen Gewebe haben. Auf die einzelnen limitierenden Faktoren wird später eingegangen, dazu werden die Ergebnisse dieser Studie miteinander verglichen, analysiert und mit verwandten Studien quervernetzt.

### 4.1 Dekompositionsprozesse

Nach Eintritt des Todes und nach vollständiger Abkühlung der Körpertemperatur, beginnt der biochemische Abbauprozess. Diese postmortalen Veränderungen hängen von der Umgebungsbeschaffenheit, von der Körpertemperatur und vom Feuchtigkeitsgehalt des Körpers ab. Liegt der Leichnam in einer feuchten und warmen Umgebung, so beginnen aerobe und anaerobe Bakterien mit der reduktiven Zersetzung. Die Fäulnisbakterien kommen auf der Hautoberfläche, in den Lungenwegen im Magen-Darm-Trakt und im Genitalbereich vor. Die grünliche Verfärbung der Haut des Unterbauches signalisiert den Beginn der Fäulnis. Durch die Hämolyse und der Verbreitung der Bakterien in den Venen kommt es zum Durchschimmern des Venennetzes, weitere Veränderungen sind Aufschwellen von Abdomen, den Augenlidern und dem Mund durch den sich entwickelten Gasen, Vorschieben der Zunge durch die Gase, Kotalustritt, Blasenbildung zwischen Epidermis und Dermis, mit Folge des Ablösens der Epidermis von der Dermis. Haare, Fuß- und Zehennägel lösen sich, das Fettgewebe verflüssigt sich, die Proteolyse beginnt, das Gehirn setzt sich ab und verflüssigt sich und Fäulnisblasen entstehen in den inneren Organen. Auch Tiere, wie Fliegen, Maden und andere Insekten beteiligen sich am Abbau des Gewebes. Der Fäulnisgrad gibt keine genaue Auskunft über die Leichenliegezeit, es gibt jedoch grundsätzlich eine Regel, die Casper-Regel, welche lautet: 1 Woche Luft = 2 Wochen Wasser = 8 Wochen Erdgrab. Bis eine Leiche im Erdgrab einigermaßen skelettiert ist, vergehen je nach Umgebung 20-30 Jahre. Verliert der Leichnam in kurzer Zeit sehr viel Wasser, z.B. durch Zugluft, beginnt die Mumifikation bereits nach einer Woche, nach mehreren Wochen ist der Körper zum Teil ausgetrocknet, eine vollständige Mumifizierung dauert schon einige Monate. Fäulnis Bakterien gedeihen und wachsen am liebsten in einer feuchten Umgebung, durch schnelles Austrocknen der Leiche, bleibt das Gewebe somit vom Bakterienbefall weitgehend verschont. Folgt die Mumifizierung unvollständig, so können sich Pilze auf der Hautoberfläche ausbreiten. Unter bestimmten Umweltbedingungen, also in einem feuchten, anaeroben Milieu, kann es zur so genannten Fettwachsbildung kommen, auch Leichenwachsbildung oder Adipocire genannt. Dabei werden ungesättigte Fettsäuren in gesättigte Fettsäuren umgewandelt. Schon nach einigen Wochen wird die Umwandlung des Fettes in der Unterhaut sichtbar, nach Monaten erst trifft es die Muskulatur. Bis der Vorgang der

## Diskussion

kompletten Verseifung abgeschlossen ist vergehen Monate bis Jahre. Die Mumifizierung von Moorleichen wird durch das anaerobe Umfeld und die Gerb- und Huminsäuren des Moores unterstützt. Bei Eisleichen im Permafrost erfolgt der Erhalt durch Gefrieren der Leiche [DETTMEYER UND VERHOFF, 2011].

Die Dekompositionsprozesse finden auf mikrostruktureller Ebene statt, durch die daraus resultierenden Veränderungen im Gewebe werden die Ergebnisse histologischer Untersuchungen beeinflusst.

### **4.2 Rehydrierungen**

Im ersten Teil dieser Studie wurden 7 Rehydrierungslösungen und eine negativ Kontrolle am Lungengewebe von Piraino getestet und verglichen. Die Ergebnisse des ersten Teiles dieser Studie geben Aufschluss über die unterschiedliche Wirksamkeit der 7 getesteten Rehydrierungslösungen. Hier werden die Wirkungen der einzelnen Komponenten der Rehydrierungslösungen und die daraus resultierenden Ergebnisse beschrieben und diskutiert. Jeder einzelne Bestandteil der etablierten Lösungen hat eine bestimmte Aufgabe.

Ziel ist es das Gewebe so zu rehydrieren, dass es annähernd einem frischen Gewebstück entspricht. Die optimale Lösung soll eine ideale Quellung des Kollagens verursachen, es soll nicht zu stark quellen, sodass es reist. Weiters soll das Gewebe etwas gehärtet werden, dass es nicht in sich zusammenfällt.

#### **4.2.1 Wirkung der Reagenzien**

Im unteren Teil werden die Wirkungen der getesteten Reagenzien für die Rehydrierungen genauer beschrieben.

##### **4.2.1.1 Wirkung des Natriumcarbonats**

Vorteil: Fördert das Eindringen von Wasser in das eingetrocknete antike Material.

Nachteil: Bricht die Brücken zwischen den kollagenen Fasern, dies beeinflusst den Strukturzusammenhalt negativ [AUFDERHEIDE, 2004].

### **4.2.1.2 Wirkung der Ethanols**

Vorteil: Ethanol diffundiert sehr schnell ins Gewebe, entzieht Wasser und wirkt deshalb härtend, das verhindert das kollabieren der aufgeweichten Struktur [MULISCH, 2010]. Ethanol wirkt der Protease des Gewebes entgegen, welche den Abbau aktivieren würde [AUFDERHEIDE, 2004]

Nachteil: Ethanol härtet sehr stark und kann das Gewebe schrumpfen lassen [AESCHT E., et al., 2010].

### **4.2.1.3 Wirkung des Formaldehyds**

Vorteil: Formaldehyd konserviert die Struktur der Proben und hat härtende Eigenschaften, härtet aber nicht so stark wie Ethanol. [AESCHT E. et al., 2010 und MEKOTA, 2002]. Formaldehyd hat auch eine desinfizierende Wirkung und wirkt so dem bakteriellen Abbau des Gewebes nach der Rehydrierung entgegen [PSCHYREMBEL (a), 1982].

### **4.2.1.4 Wirkung der Saccharose Lösung**

Vorteil: Die Saccharose Lösung hat die Eigenschaft, die Oberflächenspannung der Wassers zu minimieren, sodass die Lösungen das Gewebe besser benetzen und eindringen können [MEKOTA, 2002]

### **4.2.1.5 Wirkung der Brij® Lösung**

Brij® ist ein Detergens mit denselben emulgierenden Eigenschaften wie die Saccharose Lösung.

### **4.2.1.6 Wirkung der Glucose**

Glucose ist ein Monosaccharid (6 C- Atome und eine Aldehydruppe) und hat dieselben Eigenschaften wie die Saccharose Lösung [LATSCHA et. al., 2005]

### 4.2.2 Solution III

Diese Lösung wurde von Mekota entwickelt, sie besteht zu 8 Teilen aus 0,2% Lenor Weichspüler in 5%igem Natriumcarbonat und zu 2 Teilen aus 4%igem wässrigem Formaldehyd [MEKOTA und VERMEHREN, 2004].

Das Natriumcarbonat macht die Kanäle im Gewebe gängig, das Lenor macht es weich und das Formaldehyd fixiert die Struktur. Die Eigenschaften dieser Lösungen erzielen eine schonende Behandlung der antiken Proben. Durch das sanfte Eindringen der Lösungen und nicht zu starkes aufquellen, ist das Gewebe nicht gerissen und schafft so einen besseren Überblick der Struktur. Alle untersuchten Proben mit der Solution III (außer der Knochen der Zweeloo Frau) haben einen sehr guten oder guten Überblick gezeigt.

Mekota und Vermehren untersuchten Proben einer Placenta, einer Haut und eines Meniscus von ägyptischen Mumien, bei allen drei Proben hat die Solution III als eine der besten Lösungen abgeschnitten. Die Haut war gut erhalten, aber Zellen waren keine mehr sichtbar. Die zum Teil gut erhaltene Epidermis hat sich an manchen Stellen von der Dermis abgelöst. Es konnten Melanozyten, Haarfollikel, Talgdrüsen, Schweißdrüsen, Blutgefäße und sogar periphere Nerven identifiziert werden [MEKOTA und VERMEHREN, 2004].

Die guten bis sehr guten Ergebnisse von Mekota können in dieser Untersuchung bestätigt werden.

Im unten angeführten Diagramm „Ergebnisse aller Proben mit der Solution III“ sieht man die Ergebnisse aller Proben bezüglich der Parameter.

## Diskussion

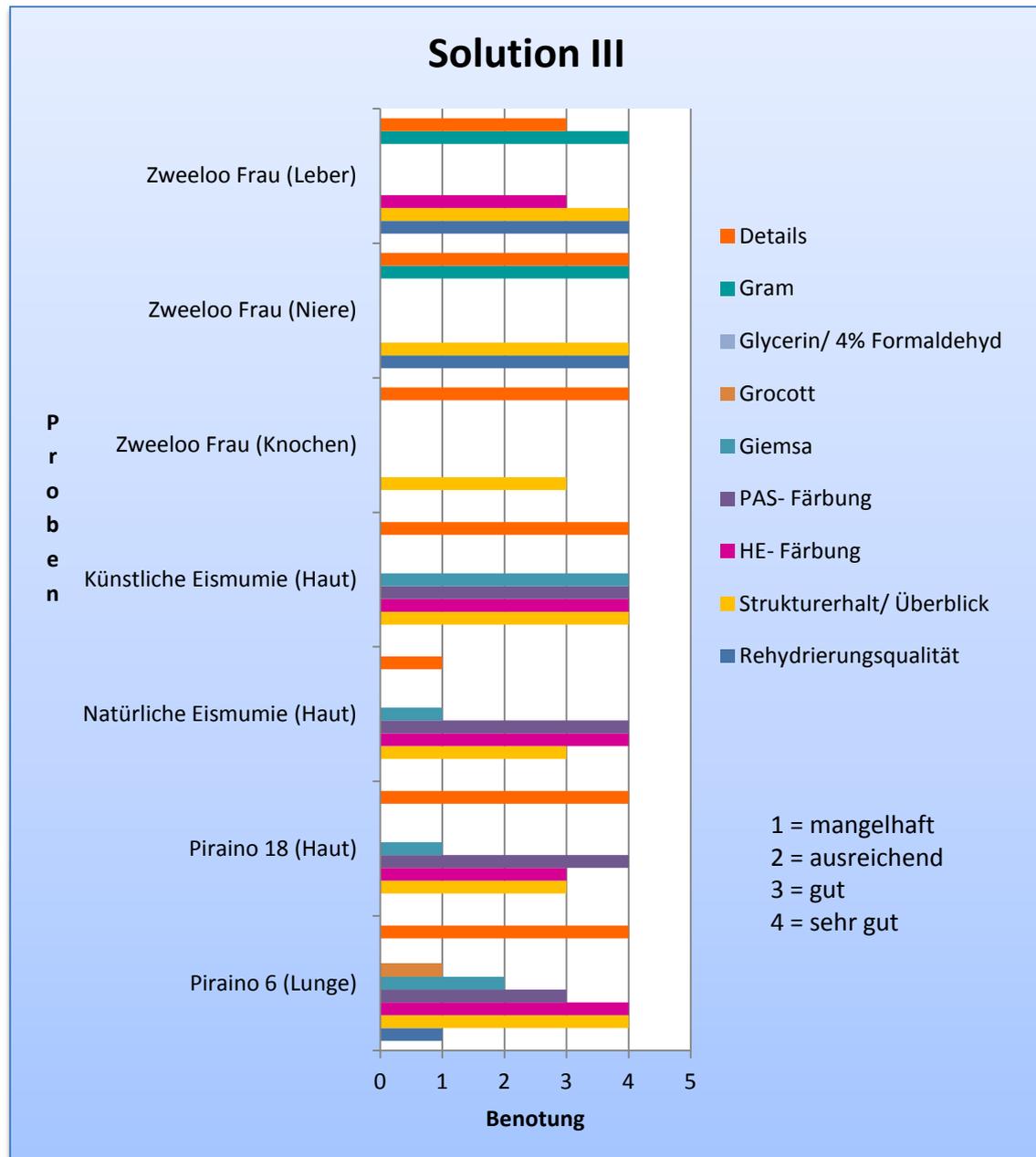


Diagramm 3: Ergebnisse aller Proben mit Solution III

### 4.2.3 Solution II

Diese Rehydrierungslösung wurde auch von Mekota entwickelt. Sie besteht aus 50% destilliertem Wasser, 30% aus 15%iger Saccharose und 20% aus 2%igem Natriumcarbonat.

## Diskussion

Natriumcarbonat hat den Nachteil, dass er die Brücken zwischen den kollagenen Fasern auflöst, dies wird in dieser Lösungskombination bei den Ergebnissen der Lunge deutlich. Die leicht wasserlösliche Saccharose und das Natriumcarbonat fördern das Eindringen der Flüssigkeiten in das Gewebe. Die Verdünnung durch dest. Wasser sollte die Reaktionen schonender einwirken lassen. Diese Untersuchung zeigt eine gute Quellung, aber zu stark fragmentierte kollagene Fasern. Diese Lösung wurde in dieser Studie nur bei der Lungenprobe der Mumie aus Piraino getestet und aufgrund der starken Fragmentierung nicht weiter verarbeitet.

### 4.2.4 Ruffer I

Diese Lösung besteht aus Wasser (50%), absoluten Ethanol (30%) und 5%igem Natriumcarbonat (20%).

Alkohol dringt sehr schnell in das Gewebe ein und härtet es. Das Natriumcarbonat fördert zwar das Eindringen von Wasser und Alkohol, lässt aber auch das Gewebe gern aufbrechen. Die Ergebnisse zeigen eine sehr gute Rehydrierung, das Kollagen ist sehr stark aufgequollen, gut sichtbar und nur leicht aufgerissen. Der Strukturerthalt bezüglich des Überblickes ist allerdings mangelhaft ausgefallen, das heißt man kann keine für die Lunge typische Struktur erkennen. Die Details sind gut erhalten, sogar Flimmerhärchen kann man sehen. Diese Rehydrierung wurde nicht mehr bei den Hautproben eingesetzt, da nur die Lösungen mit den besten Noten in den zweiten Durchlauf kamen.

Schon Ruffer wies auf die negative Wirkung des Natriumcarbonats hin, er beobachtete ein Zerreißen der Fasern bei exzessivem Gebrauch [AUFDERHEIDE (a), 2003] Diese Lösung bewirkte bei der Lunge, trotz Natriumcarbonat Anteilen, jedoch keine nennenswerte Zerstörung der Brücken zwischen den Fasern.

Mekota und Vermehren empfehlen diese Lösung bei Hautproben [MEKOTA und VERMEHREN, 2004].

Es wurden schon viele natürliche Mumien mit der Ruffer Lösung rehydriert. Zimmermann untersuchte die Effektivität dieser Lösung um das Ausmaß der Artefaktbildung zu bestimmen. Dazu trocknete er zum Vergleich ein rezentes, menschliches Gewebstück, rehydrierte es mit der Ruffer Lösung und verarbeitete es

## Diskussion

histologisch weiter. Ein guter Erhalt der Struktur des untersuchten Gewebes konnte evaluiert werden [ZIMMERMANN, 1972].

### **4.2.5 Ruffer II**

Die Ruffer II Lösung setzt sich aus 97% Leitungswasser, 2% aus 5%igem Natriumcarbonat und 1% aus 4%igem Formaldehyd zusammen.

Der hohe Anteil an Wasser soll die Lösung stark verdünnen, das Natriumcarbonat fördert wie schon oben beschrieben das Eindringen des Wassers und das Formaldehyd hat konservierende und härtende Eigenschaften.

Diese Mischung hat eine sehr gute Rehydrierungsqualität gebracht, die Fasern sind zum Teil gerissen. Die Struktur der Lunge kann man auf den Schnitten jedoch nicht erkennen. Das mag zum einen den Grund haben, dass ein ungünstiger Ausschnitt getroffen wurde und zum anderen, dass sich die Lunge nicht so gut eignet, wie zum Beispiel die Haut. Die Haut hat einen bestimmten Aufbau, dadurch fällt die Orientierung leichter. Diesen Vorteil hat die Lunge als Untersuchungsmaterial nicht. Die Details sind gut erhalten, man kann einzelne Fibrillen sehen.

Untersuchungen am Meniscus einer ägyptischen Mumie haben gezeigt, dass die Ruffer II Lösung bestens für Meniscus Proben geeignet ist [MEKOTA und VERMEHREN, 2004].

Diese Lösung hat in dieser Studie zwar gut abgeschnitten, wurde aber nicht weiterverarbeitet, da nur die Lösungen mit den besten Ergebnissen gewählt wurden.

### **4.2.6 Zimmermann**

Diese Lösung setzt sich zusammen wie die Ruffer I Lösung, zusätzlich wird täglich 1/3 vom Volumen mit absolutem Alkohol ersetzt.

Die Wirkung der Ingredienzien der Ruffer I Lösung kann man oben nachlesen. Der zusätzliche Alkohol soll das Gewebe konservieren und härten.

## Diskussion

Die Kollagenstruktur ist gut gequollen und somit ist die Rehydrierungsqualität gut ausgefallen. Der Überblick ist nicht zufrieden stellend, da die typischen Lungenmerkmale schlecht zu erkennen sind. Die Details sind allerdings recht gut erhalten.

### **4.2.7 Glycerin/ 4% Formaldehyd**

Die Glycerin/4% Formaldehyd Lösung besteht aus dem Mengenverhältnis von 1:1. Das Glycerin

In dieser Studie wurde diese Lösung an der Haut der Mumie aus Piraino 18 getestet. Die Rehydrierungsqualität und der Strukturhalt der Haut wurden mit „sehr gut“ benotet. Im Punkt „Details“ hat diese Lösungsvariante etwas schlechter abgeschnitten und bekam deshalb die Note „gut“.

Bei dieser Probe wurde auch der Einfluss der Eintauchzeiten nach der Fixierung mit Formaldehyd bis zum Einbetten getestet. Bei allen anderen Proben betrug die Zeitspanne zwischen Fixierung und Einbettung 9h und 15min., dieser Ablauf wurde auf 2h reduziert. Die Ergebnisse sind erstaunlich, das Kollagen ist sehr gut gequollen und dennoch kaum gerissen.

### **4.2.8 Negativ Kontrolle**

Diese „negativ Kontrolle“ wurde bei allen Proben außer bei den Proben der Zweeloo Frau getestet und dient als Referenz zu den rehydrierten Proben.

Erstaunlicherweise haben die Proben ohne Rehydrierung im Vergleich zu den rehydrierten Proben zum Teil sehr gut abgeschnitten. Vergleicht man die Probe der künstlichen Eismumie mit der Solution III, mit der Probe der Künstlichen Eismumie mit der Negativ Kontrolle, so gibt es bezüglich der Bewertung des Strukturhaltes und der erhaltenen Details keinen Unterschied zwischen den beiden Proben, beide haben sehr gute Ergebnisse gebracht. Die Natürliche Eismumie hat im Punkt „Details“ besser abgeschnitten als die Solution III. Die Lunge und die Haut aus Piraino haben im Vergleich mit der Solution III im Bewertungspunkt „Detail“ einen schlechteren

## Diskussion

Erhaltungszustand, die Solution III hat ein „sehr gut“ und die Negativ Kontrolle ein „mangelhaft“. Die beiden Proben aus Piraino zeigen aber dennoch einen guten bis sehr guten Überblick über die Struktur.

In dieser Studie fällt auf, dass die künstliche Eismumie, gefolgt von der Lunge aus Piraino, den besten Erhaltungszustand hat (siehe: Diagramm 2: Details aller Proben“ im Ergebnis Teil). Blättern wir zurück in den Ergebnissteil zum Diagramm 2: „Strukturerhalt aller Proben“, so sieht man, dass bei einem sehr guten Erhalt des Gewebes nicht unbedingt eine Rehydrierung erforderlich ist, da alle Proben gleiche bis annähernd gleiche Ergebnisse gebracht haben. Richtet man die Aufmerksamkeit auf die „Natürliche Eismumie“ so schneidet die Negativ Kontrolle im Punkt „Strukturerhalt“ gleich schlecht ab wie die Sandison und die Wiest et al. Bei den Details zeigt die Natürliche Eismumie ohne Rehydrierung einen guten Erhalt, alle Rehydrierungen schneiden mangelhaft ab. Die Probe der Haut aus Piraino ist ohne Rehydrierung mangelhaft in der Darstellung der Details.

Zusammenfassend kann man zur negativen Kontrolle sagen, dass sie im Vergleich zu den Rehydrierungslösungen, ausgenommen die Haut aus Piraino, gleich oder besser funktioniert hat. Aufgrund dieser Ergebnisse scheint es in manchen Fällen nicht unbedingt notwendig die Proben zu rehydrieren. Es ist deshalb wichtig immer eine negative Kontrolle zur Bearbeitung antiker Gewebe mit einzubeziehen.

Im unten angeführten Diagramm „4“ sieht man die Ergebnisse aller Proben mit der „Negativ Kontrolle“.

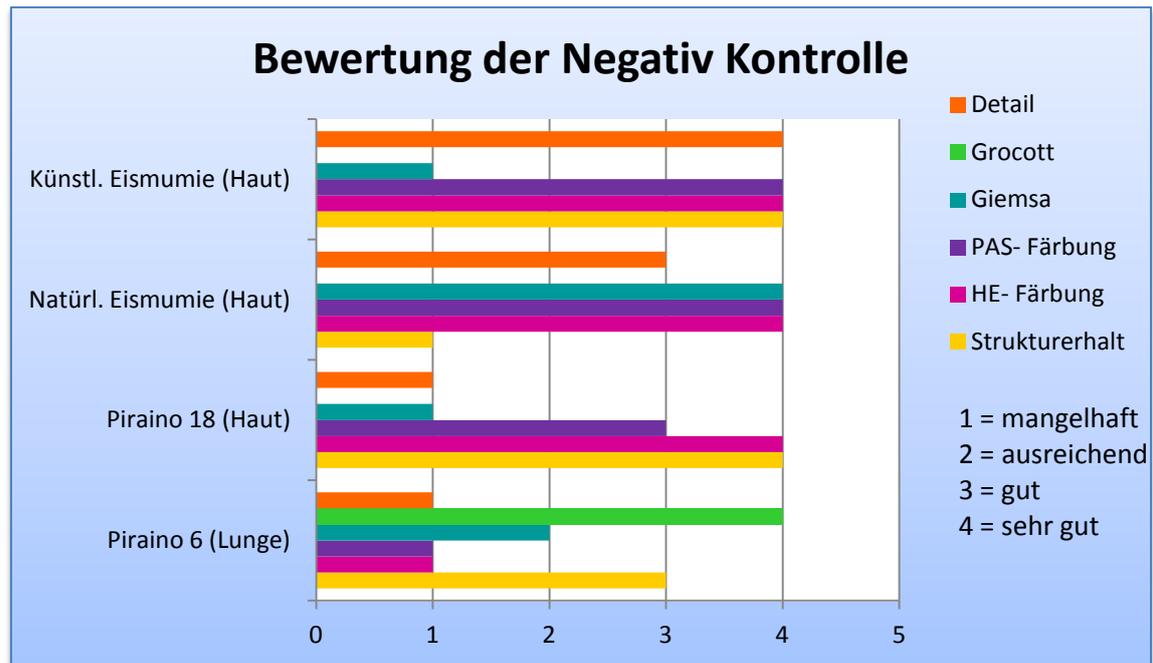


Diagramm 4: Ergebnisse aller Proben mit der NEG

#### 4.2.9 Wiest et al.

Diese Lösung besteht zu 95 % aus 2%igem Formaldehyd und aus 5% Brij®.

In dieser Variante kommt Formalin nur in 2%iger Form vor, durch die niedrige Prozentzahl wirkt die wässrige Formaldehyd Lösung schonender. Das Brij® hat die Eigenschaft dass das Gewebe besser benetzt wird und somit das Formaldehyd besser eindringen kann.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Bezug auf die Details sehr gut geglückt, nur die Natürliche Eismumie wurde mit „mangelhaft“ bewertet. Die Rehydrierungsqualität dieser Lösung hat bei der Lungenprobe aus Piraino eine gute Quellung des Kollagens gebracht.

Diese Ergebnisse dieser Untersuchung bestätigen nicht die Ergebnisse von Mekota in ihrer Studie ägyptischer Mumien. Die Wiest et al. brachte bei den ägyptischen Mumien „mittelmäßige bis schlechte“ Noten. Mekota empfiehlt diese Lösung nicht, ihr scheint, dass die Konzentration der Ingredienzien nicht optimal ist. Sie meint, es sollte mehr Brij® und weniger Formaldehyd enthalten sein, da das Formaldehyd zu schnell in das Probematerial eindringt und das Gewebe aufreist [Mekota, 2002]. Dies kann in dieser

## Diskussion

Studie nicht bestätigt werden, möglicherweise reagiert die Lösung bei künstlich präparierten Mumien anders, als bei Natürlichen.

Im unten angeführten Diagramm „5“ sieht man die Ergebnisse aller Proben mit der Wiest et al. Lösung.

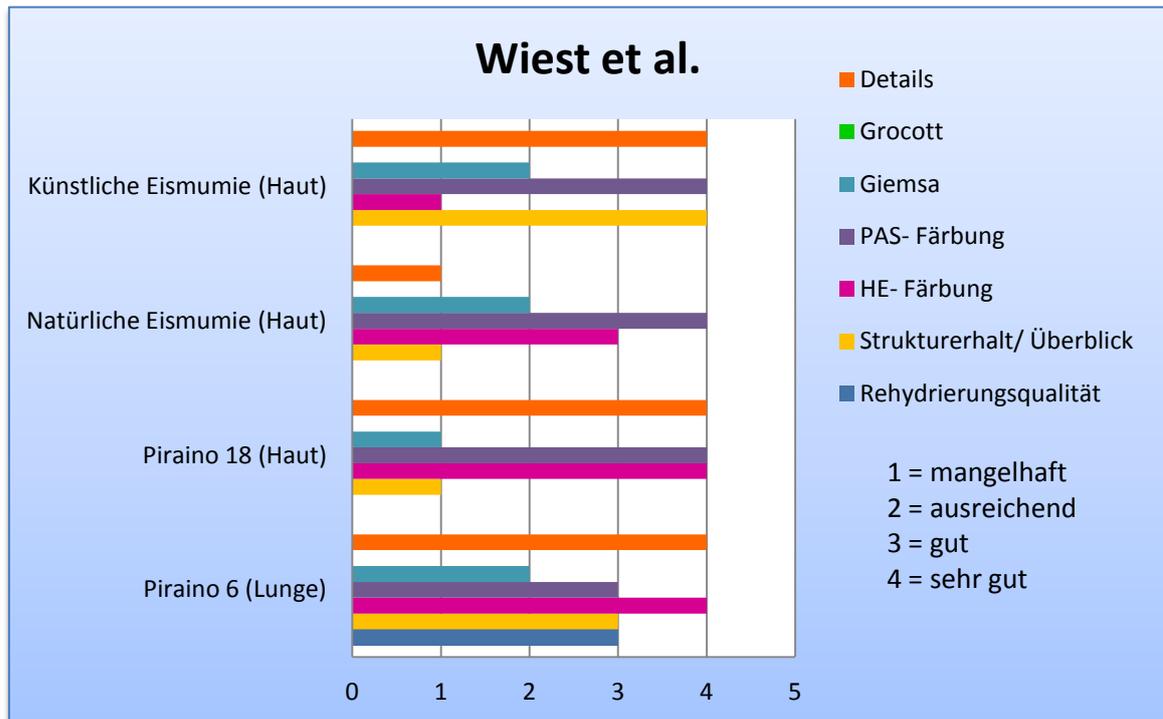


Diagramm 5: Ergebnisse aller Proben mit der Wiest et al.

### 4.2.10 Sandison

Die Sandison Lösung ist aus 50% 1%igem Formaldehyd, 30% 96%igem Ethanol und 20% 5%igem Natriumcarbonat zusammengesetzt.

Die Konzentration des Formaldehyd's ist in dieser Lösung im Vergleich zu den anderen Lösungen mit 1% am niedrigsten.

Im unten angeführten Diagramm „6“ sieht man die Ergebnisse aller Proben mit der Sandison Lösung.

## Diskussion

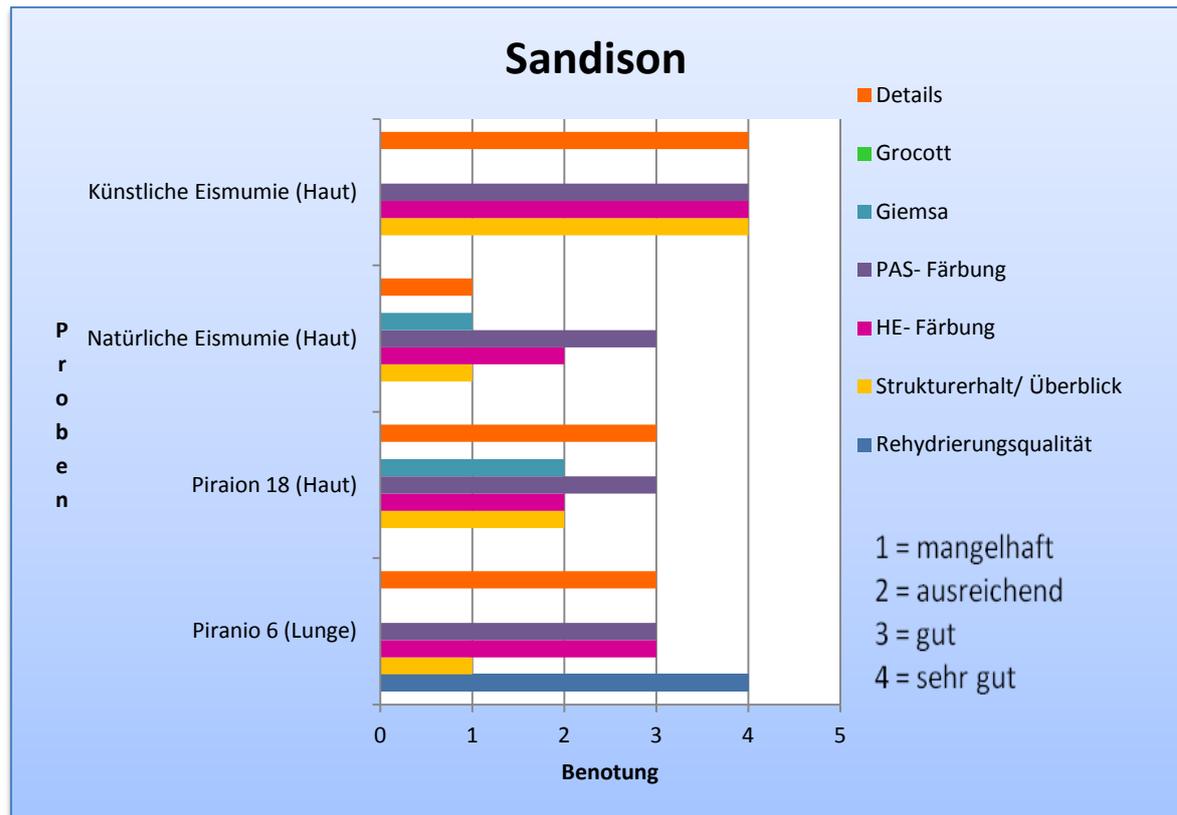


Diagramm 6: Ergebnisse aller Proben mit der Sandison

### 4.3 Einfluss der Fixierung

Für Histologische Untersuchungen gibt es eine Vielzahl von Fixanzien, je nach Untersuchungsziel wählt man unter den möglichen Fixierungen, die Beste aus. Soll das Präparat zur Übersicht der Struktur dienen, so werden die Lösungen Formalin, Bouin, Zenker und Schaffer als mögliche Fixanzien in die engere Auswahl genommen, wobei das Formalin bei rezenten Proben als beste Fixierung empfohlen wird [AESCHT E. (a) et al., 2010].

Mekota und Vermehren erzielten in einer Studie von 2004 die besten Ergebnisse für antike Haut Proben mit der Kombination von Ruffer I (1921) mit Formaldehyd, Gruppe et al. (1997) mit Formaldehyd, Solution III mit Formaldehyd, Ruffer I (1921) mit Schaffer Lösung, und Solution III mit Bouin Lösung. Die Plazenta Probe schnitt mit der Sandison und Solution III, beide mit Formaldehyd, am besten ab. Die Schnitte mit dem Meniskus hatten die besten Ergebnisse mit der Ruffer II (1921) in Kombination mit

## Diskussion

Formaldehyd und mit der Solution III in Kombination mit der Schaffer Lösung [MEKOTA und VERMEHREN 2004].

Da das Formaldehyd bei rezentem Material und auch bei fast allen antiken Proben von Mekota und Vermehren die besten Ergebnisse auch in Kombination mit unseren Rehydrierungen bringen, besonders auch bei den für diese Studie relevanten Hautproben, kam ausschließlich die 4%ige Formaldehyd Lösung in dieser Untersuchung zum Einsatz.

### **4.4 Färbungen**

Grundsätzlich kann man sagen, je besser der Strukturhalt, desto besser die Färbung, denn wenn zu wenig Gewebe bzw. Struktur erhalten ist, desto weniger Farbe kann sich mit dem Gewebe verbinden. Diese Aussage gilt für alle Färbungen.

#### **4.4.1 HE-Färbung**

In dieser Studie wurde die Hämalaunlösung sauer nach Mayer der Firma Roth zur Kernfärbung eingesetzt. Das positiv geladene Hämatoxin hängt sich an die negativ geladenen Phosphatgruppen, z.B. an die Nukleinsäuren des Zellkerns, Kalk, Bakterien und Knorpelgrundsubstanz und färbt diese blau. Das leicht saure Eosin dient zur Diffusion und liegt in leicht saurer Lösung vor. Die meisten Proteine der Zellstruktur sind negativ geladen, der positiv geladene Wasserstoff der Lösung gibt dem Cytoplasma positive Ladungen ab, an welche das negativ geladene Eosin binden kann. Das Eosin färbt die positiv geladenen Proteine, das Kollagen, Cytoplasma und Erythrozyten rot [MULISCH und WELSCH (d), 2010].

Die Zusammenfassung der Ergebnisse im Diagramm „Ergebnisse aller Proben mit der HE- Färbung“ macht sichtbar, dass ein Zusammenhang zwischen Erhalt des Gewebsverbandes, also des Strukturhaltes und der Qualität der Färbung besteht. Mit den Lösungen Solution III, Wiest et al. Sandison und der „negativ Kontrolle wurde bei allen Proben die beste Färbung festgestellt, weil diese Lösungen am besten die Struktur

## Diskussion

erhalten konnten. Die Glycerin/4% Formaldehyd Lösung konnte auch sehr gut die Struktur erhalten und deshalb konnten sich auch die Farbstoffe bestens binden.

Die fett markierten Lösungen im Diagramm „7“ sollen jene Lösungen markieren, welche aufgrund der sehr guten Ergebnisse bei der Lungenprobe, weiter verarbeitet wurden. Außer die Glycerin/4% Formaldehyd Rehydrierung, diese wurde nur bei der Haut der Trockenmumie aus Piraino mit sehr gutem Erfolg getestet.

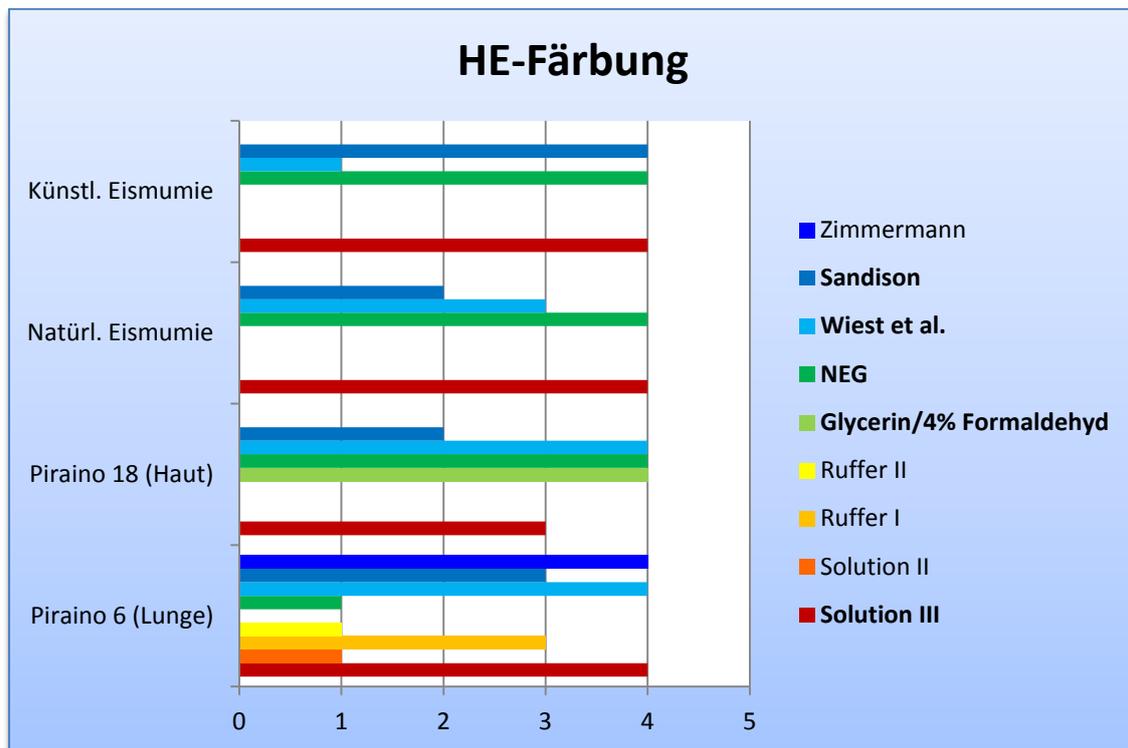


Diagramm 7: Ergebnisse aller Proben mit der HE-Färbung

### 4.4.2 PAS Färbung

Die Perjodsäure in der PAS- Lösung oxidiert die unsubstituierten 1,2-Glykole zu Aldehyden, diese reagieren dann mit der fuchsin-schwefeligen Säure des Schiff'schen Reagens und Fuchsin wird frei. Das Fuchsin färbt PAS- positive Substanzen magentarot, pink oder hell-violett. Als PAS- positiv gelten Glycogen, Glycolipide, Basalmembranen (siehe: PAS- Färbung der Haut der künstlichen Eismumie), Pilzhyphen und Kollagen, Zellkerne werden blau angefärbt [BÖCK, 1989].

## Diskussion

Insgesamt hat die PAS- Färbung gut bis sehr gut funktioniert. Auch hier gilt der Grundsatz: Je besser der Gewebeerhalt, desto besser die Färbung. Die künstlich präparierte Mumie ist laut Ergebnisse im Vergleich zu allen anderen Mumien am besten erhalten, dies ist auch bei dieser Färbung der Fall. Das ist auch nicht verwunderlich, denn die Leiche wurde vor der Mumifizierung mit Phenolum liquifactum und Formaldehyd bearbeitet (siehe: 4.6.2 Hautprobe der künstlichen Eismumie). Bei allen getesteten Lösungen hat die Künstliche Eismumie sehr gut gefärbt. Nur bei der Lungenprobe aus Piraino hat die NEG Lösung mangelhaft reagiert.

Die natürliche Eismumie hat im Vergleich zu den anderen Proben einen sehr schlechten Erhaltungszustand, dennoch ist überraschenderweise die PAS-Färbung gut bis sehr gut ausgefallen.

Die PAS- Färbung hat in Kombination mit der Solution III sehr gute Ergebnisse gebracht. Da die Solution III als Favorit bei den Rehydrierungen gilt, d.h. mit ihr wurden die besten Ergebnisse zum Erhaltungszustand erreicht, kann auch hier ein Zusammenhang gesehen werden, denn je besser der Erhalt der Struktur, desto besser die Färbung. Auch die Wiest et al. konnten in Kombination mit dieser Färbung bei den beiden Eismumien und bei der Hautprobe aus Piraino sehr gute Resultate erreichen.

Das Diagramm „8“ fasst die Proben mit deren Rehydrierung zur PAS- Färbung zusammen.

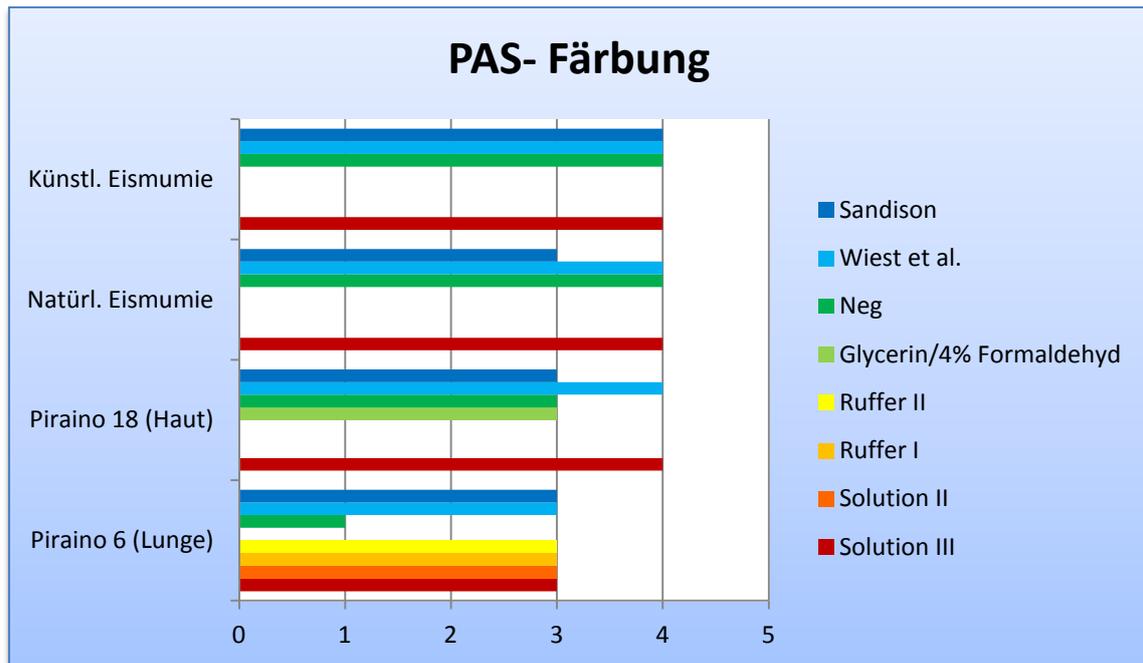


Diagramm 8: Ergebnisse aller Proben mit der PAS-Färbung

#### 4.4.3 Giemsa

Die Giemsa Lösung enthält verschiedene Stoffe, Eosin, Methylenblau, Methylenazur und Methylenviolett. Methanol und Glycerin werden als Lösungsmittel genutzt. Diese Mischung färbt das Cytoplasma und die Zellkerne je nach pH-Wert [MULISCH und WELSCH (d), 2010].

Mit wenigen Ausnahmen ist die Giemsa-Färbung mangelhaft ausgefallen. Dies hat vermutlich den Grund, dass die Lösung nicht den richtigen pH-Wert hatte, denn die Qualität dieser Färbung hängt sehr stark vom pH-Wert ab. Die sehr gut erhaltene künstliche Eismumie zeigt die besten Ergebnisse in Kombination mit der Solution III und der Wiest et al., gefolgt von der natürlichen Eismumie. Die NEG und die Wiest et al. hat bei der Natürlichen Eismumie sehr gut und gut angefärbt. Die Sandison hat nur bei der Trockenmumie aus Piraino (Lunge) sehr gut funktioniert.



Diagramm 9: Ergebnisse aller Proben mit der Giemsa-Färbung

#### 4.4.4 Grocott

Die Grocott Versilberung wurde nur an der Lungenprobe aus Piraino getestet, aufgrund der mangelhaften Qualität wurde diese Methode nicht weiter in dieser Studie verarbeitet. Nur bei der NEG Probe konnte eine sehr gute Färbung bezüglich der Farbskalierung erreicht werden.

#### 4.5 Diskussion der Ergebnisse der Lunge

Die Lungenprobe der natürlichen Mumie aus Piraino diente zur qualitativen Selektierung von sieben Rehydrierungslösungen. Aus den Lösungen Ruffer I, Rufer II, Wiest et al., Sandison, Solution II, Solution III, Zimmermann wurden die drei Besten ausgesucht. Die Solution III, Wiest et al. und die Sandison Rehydrierung wurden für die Weiterverarbeitung der Hautproben gewählt (siehe: Diagramm 10: Vergleich der Rehydrierungsqualitäten der Lungenprobe). Zusätzlich wurde eine Negativ Kontrolle sei es für die Lunge, als auch für die Haut mit in die Untersuchungen eingebunden.

## Diskussion

Bei den Lungenproben ist aufgefallen, dass eine Orientierung im Präparat sich als sehr schwierig erweist. Es gibt hier keinen strukturellen Aufbau, wie wir ihn von der Haut kennen. Dennoch konnten im Vergleich zu den rezenten Proben gewebsspezifische Strukturen wie Alveolen, Gefäße, Muskelfaser, Kollagen, Flimmerhärchen und einige Fremdkörper gut erkannt werden. Es konnten keine Zellen mit Zellkernen nachgewiesen werden, trotzdem scheint es als würden Bakterien, Makrophagen und Erythrozyten vorkommen.

Die Bakterien konnten aufgrund der passenden Größe von ca.  $2\mu\text{m}$  (Bakteriengröße zwischen  $1$  und  $10\mu\text{m}$ ) und die bakterienspezifische Blaufärbung der Giemsa identifiziert werden. Makrophagen erkennt man an ihrer bräunlichen, unregelmäßigen Struktur, diese sind gut erhalten, da sie Kohlestaub enthalten, der sich nicht organisch abbauen kann [MÜLLER und THOMAS, 2001]. Die Größe von ca.  $12\text{-}20\mu\text{m}$  spricht auch für diese Diagnose [SCHMIDT (b), 2003]. Die Größe (ca.  $7,5\mu\text{m}$ ), Form und Aneinanderreihung der zellulären Struktur auf der Abbildung „56“ sieht den Erythrozyten sehr ähnlich, dies lässt daraus schließen, dass es sich möglicherweise um rote Blutkörperchen handelt. Die mögliche Pneumocystose auf dem Bild „50“ wird durch den Erreger *Pneumocystis carinii* hervorgerufen. Im Lehrbuch „Histopathologie“ von Thomas C. wird daraufhin gewiesen, dass dieser Erreger zu den Protozoen zählt, aber wahrscheinlich ein Pilz ist [MÜLLER und THOMAS, 2001]. Das Bild „54“ der Lunge aus Piraino zeigt eine stäbchenförmige, hohle Figur mit einem fadenähnlichem Band im Zentrum des Hohlraumes. Die Länge von ca.  $7\mu\text{m}$  würde einem stäbchenförmigen Bakterium nahekommen, dafür passt allerdings die Färbung nicht, die Struktur müsste für diese Diagnose rot-violett sein. Wahrscheinlich handelt es sich hier um einen Fremdkörper.

Das Diagramm „10“ soll die Behauptungen des ersten Absatzes im Punkt „4.5 Diskussion der Ergebnisse der Lunge“ bildhaft darstellen.

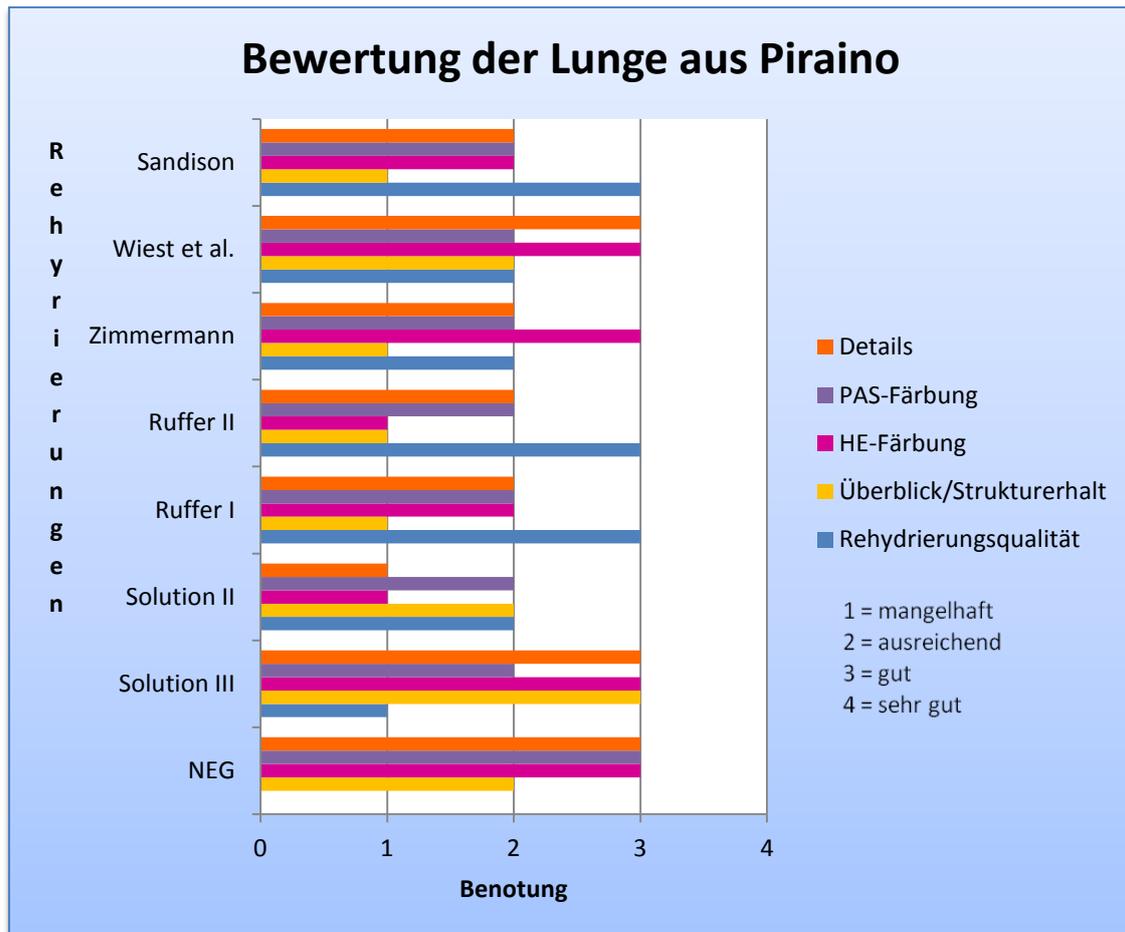


Diagramm 10: Vergleich der Rehydrierungsqualität der Lungenprobe

#### 4.5.1 Untersuchungen der Lunge aus der Literatur

An altägyptischen Mumien wurden Staublungen diagnostiziert, diese Krankheit hat sich höchstwahrscheinlich aufgrund jahrelanger Inhalation von Sand während eines Sandsturmes entwickelt [TAPP, 1986].

Walker et al. diagnostizierten an sechs Lungenproben ägyptischer Mumien anthrakotische Ablagerungen. Bei der rezenten Lunge auf dem Bild „59“ konnte auch Anthrakose festgestellt werden. Weitere Pathologien wie das Lungenödem, Emphysem (Lungenaufblähung) und Lungenentzündung konnten histologisch festgestellt werden [WALKER et al., 1987].

An Guanchen Mumien aus Spanien wurde Anthrakose festgestellt [BROTHWELL et al., 1969].

## Diskussion

Bei der Lunge aus Piraino konnten auch Fremdkörper, (siehe Abb.: 49, 51 ,54, 55 und 57) Strukturveränderungen (siehe Abb.: 48) und wahrscheinlich ein Pilz (siehe Abb.: 52) untersucht werden.

### **4.6 Diskussionen der Hautproben**

Jede der untersuchten Hautproben wurde mit den vorweg ausgewählten Rehydrierungslösungen (Solution III, Wiest et al. und Sandison) behandelt. Die Negativkontrolle soll den Einfluss der Rehydrierungen auf das Gewebe zeigen. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die verschiedenen Rehydrierungslösungen die Qualität beeinflussen. Das Diagramm mit dem Strukturerehalt aller Proben (siehe: Zusammenfassung der Hautproben“ im Kapitel „Ergebnisse“) verdeutlicht die Auswirkung der rehydrierenden Lösungen auf die Proben. Grundsätzlich gilt, je besser das Gewebe erhalten ist, desto besser funktionieren auch die Rehydrierungen (siehe: 4.6.2 Hautprobe der künstlichen Eismumie).

#### **4.6.1 Hautprobe der Trockenmumie aus Piraino**

Diese natürliche Trockenmumie wurde zwischen 1773 und 1858 in der Gruft der Chiesa Madre durch die besonderen klimatischen Bedingungen mumifiziert. Genauere Angaben zum Geburtstag und dem Todestag gibt es nicht, der Priester wurde aufgrund des Bestattungszeitraumes maximal vor 239 Jahren oder mindestens vor 154 Jahren bestattet.

Das Experiment der Haut aus Piraino mit der Glycerin/4% Formaldehyd Rehydrierung brachte erstaunliche Ergebnisse. Es wurde untersucht, welchen Einfluss der Faktor Zeit der einzelnen Arbeitsschritte zwischen Dehydrierung und dem Einbetten der Biopsien hat. Die Reduzierung der Zeit von insgesamt 9h und 15min. auf 2h zeigte im Vergleich (siehe Abb.: 65 und 66) eine bessere Quellung des Kollagens. Ausschlaggebend für das Ergebnis ist die Reduzierung des Entwässerns in der Alkoholreihe. Es wird angenommen, dass dem Gewebe, durch zu langes Einwirken in Alkohol, zu viel Wasser entzogen wird und in Folge das Gewebe schrumpft.

## Diskussion

Das Diagramm „11“ veranschaulicht die Auswirkung der verschiedenen Rehydrierungen und der negativ Kontrolle bezüglich des Erhaltungszustandes der Struktur und der Details dieser Probe im Vergleich.

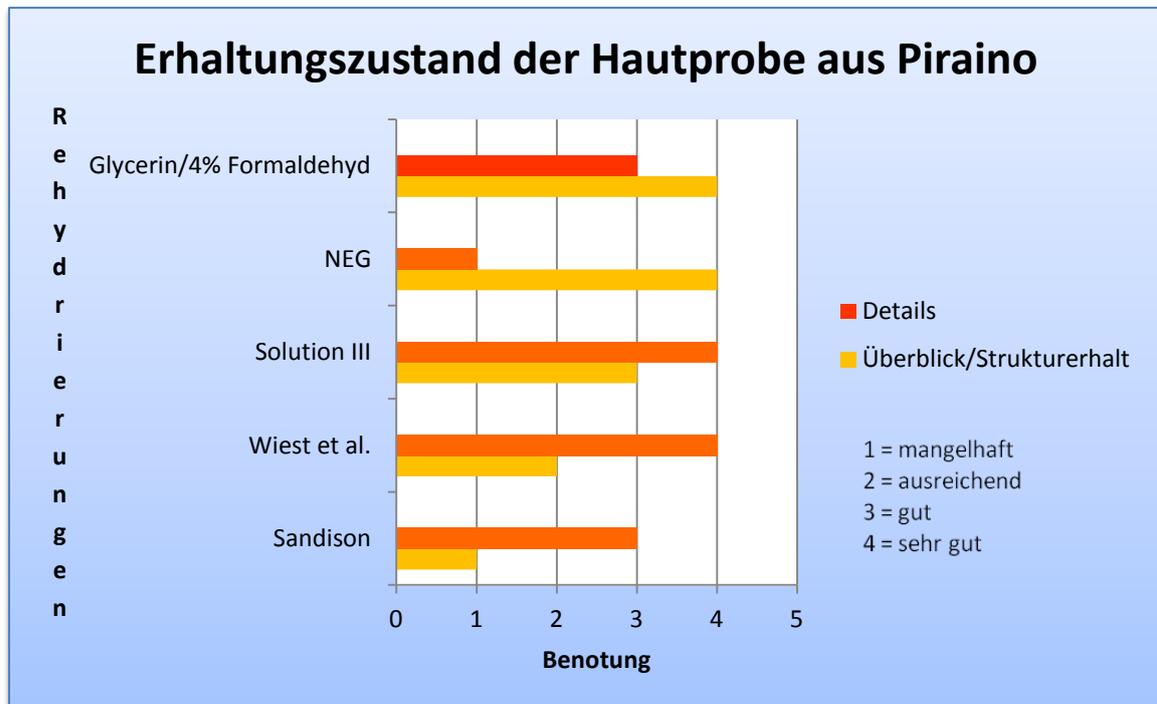


Diagramm 11: Erhaltungszustand der Hautprobe aus Piraino

Empfehlungen für Trockenmumien:

- Solution III und Wiest et al. für genaue Details
- Glycerin/4% Formaldehyd und die negativ Kontrolle zur Strukturübersicht.

### 4.6.2 Hautprobe der künstlichen Eismumie

Die künstliche Eismumie ist durch den anthropogenen Eingriff mit Phenolum liquifactum und Formaldehyd vom Bakterienbefall verschont geblieben, deshalb ist diese Probe sehr gut erhalten und am besten mit rezenten Schnitten zu vergleichen.

## Diskussion

Bei diesem Schnitt ist dank mangelnder Dekompositionsprozesse die Epidermis vollständig erhalten, wenn auch Teile der äußersten Schicht (Str. corneum) fehlen. Im Str. basale sind zahlreiche pigmentierte Melanozyten eingelagert. Insgesamt ist diese Probe sehr gut erhalten, alle Hautschichten sind gut differenzierbar. Laut Literatur erschienen Zellkerne, DNA und neutrophile Granulozyten rot-violett. Zellkerne haben eine Größe von ca.  $7\mu\text{m}$ , die rot-violetten Punkte im Bild sind aber um einiges kleiner. Neutrophile Granulozyten haben eine Größe von  $10\text{-}15\mu\text{m}$  und fallen somit auch aus der Auswahl. Möglicherweise handelt es sich bei dieser rot-violett Färbung um DNA.

Die künstlich präparierte Eismumie zeigt mit allen getesteten Lösungen und mit der Negativ Kontrolle sowohl bei den Details, als auch beim Strukturerehalt beste Ergebnisse und ist somit mit rezenten Geweben vergleichbar.

Das Diagramm „12“ zeigt die Auswirkung der Rehydrierungen und der negativ Kontrolle auf die Probe.

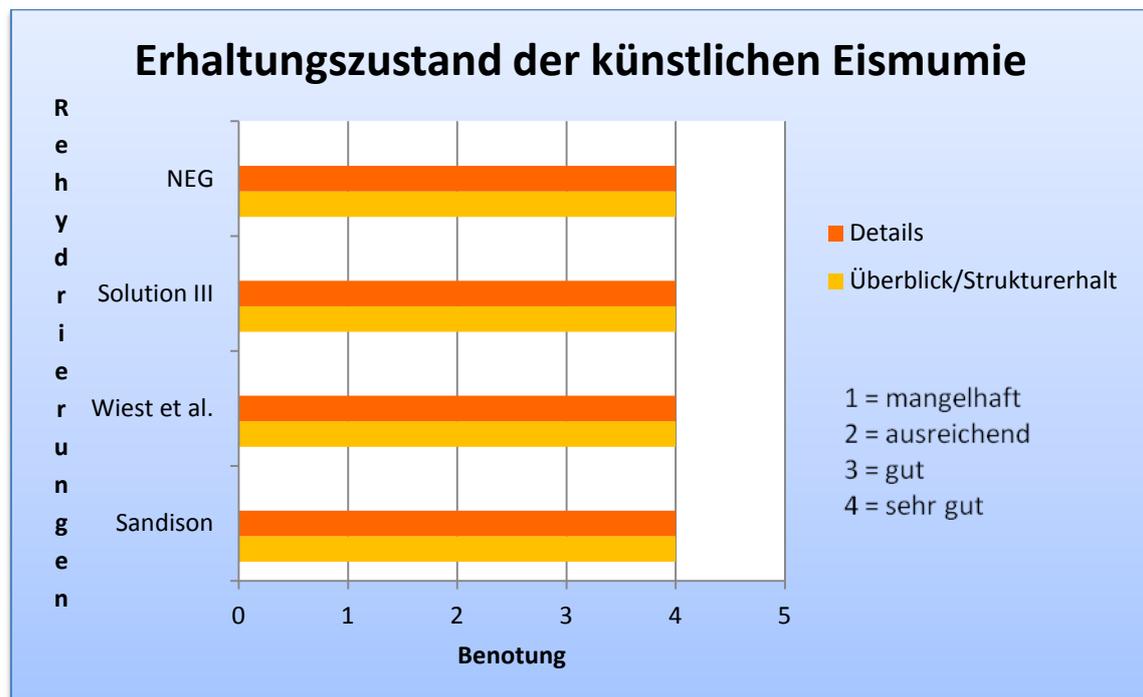


Diagramm 12: Erhaltungszustand der künstlichen Eismumie

Empfehlungen für künstliche Eismumien:

Alle getesteten Rehydrierungen und die Negativ Kontrolle, eignen sich hervorragend.

### 4.6.3 Hautprobe der natürlichen Eismumie

Diese Eismumie stammt aus dem 20Jh. und wurde im Eis der Dolomiten geborgen. Zwischen den kollagenen Fasern der Hautprobe liegen eingelagerte Fettzellen (siehe Abb.: 70), dies ist ein Hinweis für die Fettwachsbildung, welche für Eismumien typisch ist. Auch an der berühmtesten Gletschermumie „Ötzi“ konnte eine Fettwachsbildung diagnostiziert werden [Hess, 1998]. Die Fettwachsbildung kommt auch bei Wasserleichen vor, es wurde ein 45 jähriger Mann nach 16 Jahren in einer Wassertiefe von 17m gefunden, er war an seinem Fahrrad festgebunden. Ausschlaggebend für das Adipocire bei Wasserleichen ist die Umgebungstemperatur, ein Fall aus der Deutsch-Dänischen Küste beschreibt eine ausgedehnte Fettwachsbildung schon nach 22 Tagen bei einer Wassertemperatur von 20°C an einem warmen Sommer [HENSSGE und MADEA, 2004].

Im unteren Diagramm „13“ werden die Ergebnisse der Rehydrierungen bezüglich des Erhaltungszustandes der natürlichen Eismumie verglichen, um die unten angeführten (siehe: Empfehlungen für Eismumien) Empfehlungen zu veranschaulichen.

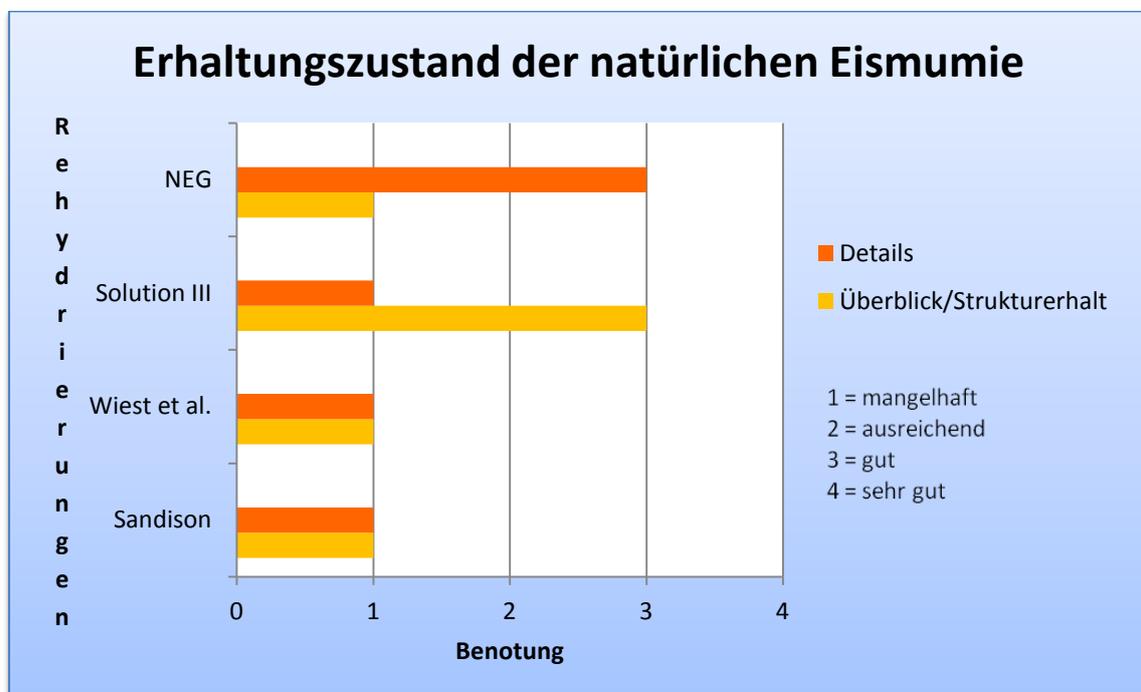


Diagramm 13: Erhaltungszustand der natürlichen Eismumie

## Diskussion

Empfehlungen für Eismumien:

Aufgrund dieser Ergebnisse eignet sich die Solution III für die Übersicht und die Negativ Kontrolle zur Darstellung von Details.

### **4.6.4 Vergleich aller Hautproben mit der rezenten Haut**

Die rezente Haut dient zur Referenz und zeigt die möglich sichtbaren Strukturen, wie zum Beispiel eine vollständige Epidermis mit eingelagerten, pigmentierten Melanozyten, Epithelzellen, Talg- und Schweißdrüsen in der Dermis und die Subkutis mit ihren Fettzellen. Die Hautprobe der künstlich präparierten Mumie kann mit einer rezenten Probe verglichen werden, ausschlaggebend dafür sind die vollständig erhaltene Epidermis, Melaningranula mit eingelagerten Pigmenten und sogar wunderbar erhaltene Epithelzellen. Auch bei der Hautprobe aus Piraino konnten Reste der Epidermis nachgewiesen werden. In der Zeitschrift „Nature“ wird die Anfälligkeit der Epidermis durch autolytische Prozesse vor der Mumifizierung erklärt [SANDISON, 1963]. Eine Besonderheit, welche bei rezenten Hautproben nicht zu finden ist, sind Fetteinlagerungen wie sie bei der natürlichen Eismumie vorhanden sind (siehe: 5.1 Dekompositionsprozesse).

### **4.6.5 Untersuchungen von Hautproben aus der Literatur**

Hautproben von Mumien wurden schon von einigen Wissenschaftlern untersucht. In der Publikation von 1997 des Chemistry Journals kann man nachlesen, dass histologische Untersuchungen der Haut von Ötzi ein gut erhaltenes Kollagen zeigen, aber weder Nuclei noch Zellen erhalten sind [BEREUTER et al., 1997].

Die Hautproben dieser Untersuchung zeigen auch alle ein gut erhaltenes Kollagen, mit Ausnahme der künstlichen Eismumie (Melanozyten und Epithelzellen; siehe Abb.: 82, 83, 84 und 85) und der natürlichen Eismumie (Melanozyten; siehe Abb.: 70), konnten weder Zellkerne noch Zellen diagnostiziert werden.

Zimmermann und Tedford untersuchten 15.000 bis 20.000 Jahre alte Gewebeproben von Säugern aus dem Pleistozän. Die Gewebe waren aufgrund des massiven

## Diskussion

Bakterienbefalls nach dem Tode komplett zerfallen und zum Teil abgelöst. Das Eis der Permafrost Zone schützte erst zu einem späteren Zeitpunkt die Kadaver vor dem vollständigen Zerfall. [ZIMMERMANN und TEDFORD, 1967]

Untersuchungen der Haut an Moormumien (2300-1600 Jahre alt) aus Norddeutschland konnten eine intakte Kollagenstruktur der Dermis feststellen. Epidermis und zelluläre Strukturen waren nicht vorhanden [STÜCKER et al., 2001].

Hautfragmente altägyptischer Mumien zeigten eine intakte Epidermis, Kollagenfasern der Dermis und Haarfollikel. Die Unterhaut bestand aus lockerem Bindegewebe ohne Fettzellen. Erythrozyten ähnliche Gebilde konnten nachgewiesen werden, Zellstrukturen konnten jedoch nicht identifiziert werden [GIACOMETTI, CHIARELLI, 1968].

Nur bei der Hautprobe der künstlich präparierten Eismumie aus dieser Studie konnte eine intakte Epidermis nachgewiesen werden. Bei den meisten Hautproben, welche in der Literatur beschrieben werden, konnte keine, oder nur zum Teil erhaltene Epidermis nachgewiesen werden.

Von Ötzi's untersuchter Epidermis ist nur mehr das Stratum basale erhalten, dort wurden Melanin Granula identifiziert [PABST et al., 2009].

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Koreanischen Mumien aus dem Mittelalter zeigten eine fast gänzlich zerstörte Epidermis, Kollagenfasern der Dermis und Melaningranulae [CHANG et al., 2006].

Untersuchungen der Haut von Nordamerikanischen Skalps, Mumien aus Peru, Chile und aus Südwestamerika und Schrumpfköpfen aus Jivaro konnten Keratin, kollagene Fasern, Fettzellen, Haare, Melanin im Stratum corneum, Schweiß- und Talgdrüsen nachgewiesen werden [POST und DANIELS, 1969].

Schweiß- und Talgdrüsen konnten nur in den rezenten Schnitten (siehe Abb.: 88 und 89) diagnostiziert werden, Fettzellen der Subkutis hingegen, konnten in allen Hautproben nachgewiesen werden.

In Hautproben von altägyptischen Mumien wurden von der Epidermis noch die Basalmembran, Schweißdrüsen, kollagene Fasern, Fettzellen in der Subkutis, Erythrozyten und Leukozyten in den Blutgefäßen und sogar Zellkerne identifiziert. Bei einigen Individuen war die Haut schlechter erhalten, es konnte keine Epidermis und kein subkutanes Gewebe nachgewiesen werden. Diese schlecht erhaltenen Proben wurden von Pilzhyphen besiedelt [VERBOV, 1986].

## Diskussion

In der Lungenprobe aus Piraino konnten auch höchstwahrscheinlich auch Erythrozyten nachgewiesen werden. Die Blutzellen konnten aufgrund ihrer passenden Größe, Form und Färbung zugeordnet werden.

Auch Rabino-Massa und Chiarelli untersuchten Gewebe der Kopfhaut von 14 ägyptischen Mumien und fanden bei 50% der Schnitte rote Blutkörperchen [RABINO-MASSA und CHIARELLI, 1972].

Mumifizierte Weichgewebe von menschlichen Überresten haben meist ein sehr gut erhaltenes Bindegewebe und oft ein sehr schlecht erhaltenes Epithelialgewebe. Die Zerfallprozesse vor der vollständigen Mumifizierung scheinen der Grund für den schlechten Zustand, bzw. das komplette Fehlen von Epithelschicht zu sein. An ägyptischen, aber auch an anderen Mumien konnte man Nervengefäßbündel nachweisen [SANDISON, 1963].

Monsalve et al. untersuchten 162-342 alte Gletschermumien aus Kanada. Sie fanden heraus, dass der Erhaltungszustand der untersuchten Proben Gewebsspezifisch ist, da an manchen Geweben Organellen besser sichtbar waren als an anderen Gewebetypen. In einigen Proben konnten Bindegewebe, Nerven- und Epithelialgewebe untersucht werden [SANDISON, 1963].

Untersuchungen der berühmtesten Eismumie „Ötzi“ konnten ein intaktes Skelett, Bindegewebe und Nervengewebe feststellen. Durch die Autolyse, das Wechseln von Auftauen und Frieren und die Fettwachsbildung wurden das Blut, epitheliale,- Muskel- und retikuläre Bindegewebsfasern zerstört [HESS, 1998]

### **4.7 Diskussion der Proben der Moormumie**

Moormumien unterscheiden sich grundsätzlich durch ihren Fundort im Hochmoor oder Niedermoor. Painter (1994) beobachtete, dass Niedermoore ständig mit Grundwasser durchspült werden, die im Wasser gelösten Salze führen zu einem pH-Wert von 5,5 bis 6,5 (leicht sauer), wie normale Böden. Hochmoore hingegen werden mit Regenwasser durchspült und erreichen einen niedrigeren pH-Wert zwischen 3,2 und 4,5. Im anaeroben Bereich, 30-50cm unterhalb der Torfoberfläche ist die Bakteriendichte reduziert. Den beiden Parametern pH-Wert und der reduzierten Bakteriendichte wurden allgemein die konservierenden Eigenschaften zugeschrieben, doch Painter weist darauf

## Diskussion

hin, dass auch anaerobe Bakterien menschliche Proteine und Kohlenhydrate zerstören können und dass die meisten Moormumien in Torfböden mit einem höheren pH-Wert, also zwischen 5,5 und 6,5, gefunden wurden. Aufderheide schreibt die konservierenden Eigenschaften des Torfbodens der Huminsäure zu. [AUFDERHEIDE (d), 2003]

In der Regel sind die Eingeweide von Moormumien nicht so gut erhalten wie die Haut. Die Leber und Niere sind meist stark geschrumpft, durch den Druck unter dem Torf stark deformiert oder unkenntlich zerstört [AUFDERHEIDE (b), 2003].

### **4.7.1 Niere**

Mit der Solution III konnte, trotz schlechter Prognosen aus der Literatur, ein sehr guter Überblick über die Struktur festgestellt werden, Cortex und Pelvis sind gut voneinander unterscheidbar. Im Detail kann man sogar den Querschnitt einiger Tubuli sehen.

#### **4.7.1.1 Vergleich mit einer rezenten Niere**

Der wichtigste Unterschied ist, dass im antiken Gewebe keine Zellen und Zellkerne sichtbar sind. Erstaunlicherweise sind die Tubuli im antiken Material sehr gut erhalten und nicht, sowie es unter dem Druck im Torf zu erwarten wäre, stark komprimiert. Glomeruli oder Blutgefäße, so wie sie im frischen Schnitt sichtbar sind, konnten in der Niere der Zweeloo Frau nicht gefunden werden.

### **4.7.2 Leber**

Vergleicht man die Qualität der Strukturhaltung von Niere und Leber, so schneidet die Niere schlechter ab. Trotzdem kann man das Leberparenchym mit den typischen polygonalförmigen Hepatozyten vom Bindegewebe unterscheiden.

#### **4.7.2.1 Vergleich mit einer rezenten Leber**

Im Leberparenchym der rezenten, aber auch der mumifizierten Leber kann man die polygonalen Hepatozyten gut erkennen. Zellkerne sind allerdings nur im frischen Gewebe blau angefärbt, da die mumifizierte Leber keine Zellkerne mehr hat.

### **4.7.3 Untersuchungen von inneren Organen aus der Literatur**

Bei spontan mumifizierten Mumien konnte die Leber an gut zwei Drittel der untersuchten Körper der Chinchorros identifiziert werden. Der Großteil der Leber besteht aus epithelialeem Gewebe, welches durch lysosomale Enzyme und Bakterien rasch zersetzt wird. In spontan mumifizierten Mumien beträgt das Volumen der Leber ca. ein fünftel des Ausgangsvolumens [AUFDERHEIDE (b), 2003].

Mikroskopische Untersuchungen der Chinchorros konnten nur an 23% der Individuen eine intakte renale Struktur feststellen. Der relativ schnelle Zerfall ist die Folge des autolytischen Prozesses, verursacht durch Enzyme [AUFDERHEIDE (b), 2003].

### **4.7.4 Knochen**

Ein typisches Merkmal von Moorleichen ist die Decalzifikation des Skelettes. Die Entkalkung der Knochenstruktur führt zur Deformation ganzer Glieder. Die histologische Untersuchung brachte einen erstaunlich guten Erhalt der Knochenstruktur, dies ist auf die niedere Säurekonzentration des Torfmoores zurückzuführen [PETSKA, 2010]. Typische Strukturen wie die Havers-Kanäle und Lamellen konnten diagnostiziert werden.

#### **4.7.4.1 Vergleich mit einem rezenten Knochen**

Der Knochen der Moormumie hat sehr schön erhaltene Haversianische Kanäle mit konzentrisch angelagerten Lamellen. Die Lamellen sind beim frischen Präparat längs geschnitten und somit, sind die Kanäle nicht sichtbar. Anders wie im Zweeloo Knochen sieht man im Frischen, Zellen im Knochenmark (Fettzellen, Megakaryozyten, Erythrozyten, unterschiedliche Granulozyten). Der rezente Knochen ist lymphozytär infiltriert, d.h. ein Lymphom konnte diagnostiziert werden.

#### **4.7.4.2 Untersuchungen von Knochen aus dem Moor aus der Literatur**

Im Gegensatz zum Weichgewebe können Knochen bei bestimmten Umweltbedingungen für sehr lange Zeit erhalten bleiben. Bei Moormumien kommt es jedoch meist zur Decalzifikation der Knochenstruktur, dies hat zwei Gründe. Ein Grund

## Diskussion

dafür ist der stoffliche Austausch zwischen Knochen und der Huminstoffe im Torfmoor. Der zweite Grund ist die Wirkung Calcium- bindender Bakterien [AUFDERHEIDE (b), 2003].

## 5 Zusammenfassung

In dieser Studie wurden eine Haut- und eine Lungenprobe einer Trockenmumie, Hautproben von zwei natürlichen Eismumien, eine Hautprobe von einer künstlichen Eismumie und Proben einer Niere, einer Leber und eines Knochens einer Moormumie histologisch untersucht. Vor der üblichen histologischen Verarbeitung mussten die trockenen und zum Teil spröden Proben rehydriert werden. Eine anschließende Fixierung war notwendig, um den Abbau durch Fäulnisbakterien zu unterbinden und dem Gewebe eine gewisse Festigkeit zu verleihen. Danach folgten die Dehydrierung, Einbettung, das Anfertigen von Schnitten, das Entfernen des Paraffins und die Färbungen. Es wurden vier verschiedenen Färbungen getestet (HE, PAS, Giemsa, Grocott). Jede Färbung hat einen bestimmten Verwendungszweck (siehe Kapitel: Material und Methoden). Nach der Färbung wurden die Schnitte mikroskopiert, fotografiert und ausgewertet. Die Auswertung wurde durch rezente Vergleichsproben unterstützt. Beurteilt wurden die Rehydrierungsqualität, der Strukturverlust im Überblick, die Qualität der Färbung, der Erhalt im Detail und Besonderheiten.

Ziel dieser Studie war es, die Wirkung der verschiedenen Rehydrierungslösungen auf die Gewebeproben zu testen und den daraus resultierenden Erhaltungszustand zu vergleichen. Eine optimale Verarbeitung aller Proben ist die Voraussetzung für die hohe Qualität der Ergebnisse.

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass die unterschiedlichen Gewebetypen, aber auch die verschiedenen Mumientypen bei gleicher Behandlung unterschiedliche Ergebnisse gebracht haben. Das mag zum einen daran liegen, dass die diversen Dekompositionsgradienten der unterschiedlichen Proben die Resultate beeinflussen, es mag aber auch an Wirkung der Rehydrierungslösung auf die unterschiedlichen Mumientypen liegen. Diese Studie mag nur einen kleinen Ausschnitt der Zusammenhänge zum Erhaltungszustand geben, jedoch wird aufgrund der vorliegenden Ergebnisse deutlich, dass eine Verallgemeinerung der Behandlung von mumifiziertem Gewebe nicht reicht und eine spezifische Aufbereitung der Proben bezüglich der Rehydrierung und der Mumienart nötig ist. Trotzdem kann aufgrund der erarbeiteten Resultate eine Empfehlung gegeben werden.

## Zusammenfassung

<b>Mumentyp</b>	<b>Probe</b>	<b>Empfohlene Rehydrierung für die Übersicht und den Strukturerhalt</b>	<b>Empfohlene Rehydrierungen zur Darstellung der Details</b>
Trockenmumie	Haut	Glycerin/4% Formaldehyd NEG	Solution III Wiest et al.
Trockenmumie	Lunge	Solution III	NEG Solution III Wiest et al.
Künstliche Eismumie	Haut	NEG Solution III Wiest et al. Sandison	NEG Solution III Wiest et al. Sandison
Natürliche Eismumie	Haut	Solution III	NEG
Moormumie	Niere	Solution III	Solution III
	Leber	Solution III	Solution III

**Tabelle 21: Empfehlungen zur Rehydrierung**

Die Hautprobe der natürlichen Eismumie und die Leberprobe der Moormumie erreichten als maximale Note ein „gut“. Alle anderen in dieser Tabelle angegebenen Ergebnisse haben die Note „sehr gut“ erreicht.

Die Ergebnisse der „negativ Kontrolle“ bringen die Notwendigkeit der Rehydrierung antiker Weichteile ins Wanken. Unerwartet hat die „negativ Kontrolle“ bei den Proben allgemein sehr gute Resultate gebracht, trotzdem kann die Rehydrierungen nicht für überflüssig gehalten werden, auch hier gilt die Regel, dass es kein allgemeines Rezept für die histologische Mumienuntersuchung gibt. Jedoch ist es sinnvoll und empfehlenswert bei jeder histologischen Untersuchung mumifizierten Proben eine „negativ Kontrolle“ zu machen.

Eine weitere wichtige Erkenntnis ist die Tatsache, dass die Paläohistologie nicht eins zu eins auf die Histologie umzusetzen ist. Die Modifizierung der Einwirkzeiten zwischen

## Zusammenfassung

der Fixierung und der Einbettung in das Paraffin von 9h und 15 min. auf 2 Stunden erbrachte ein erstaunliches Ergebnis, das Kollagengewebe war gut und gleichmäßig gequollen, nicht gerissen und viel besser erhalten. Auch die Zeit zwischen Entparaffinierung und Färbung wurde von 6min. auf schnelles Eintauchen variiert. Auch diese Veränderung hat ein besseres Ergebnis gebracht. Diese Ergebnisse begründen die Notwendigkeit weiterer Adaptierung der Methoden, um eine Optimierung der Untersuchungen in der Paläohistologie zu gewährleisten.

### **6 Summary**

In this study, a skin and a lung of a dry mummy, skin samples from two natural ice mummies, a skin sample of an artificial ice mummy and samples from a kidney, a liver and a bone of a bog mummy were examined histologically. In contrast to recent tissue samples, ancient soft tissue remains have to be rehydrated before applying the common histological processing. First of all in this processing a fixation step is necessary to prevent the decay by bacteria and more importantly to preserve the initial structure. This first step is followed by the following steps: dehydration, embedding, sectioning, removing the wax and the staining. In this study we have tested four different staining techniques (HE, PAS, Giemsa, Grocott). After staining, the glass slides were examined under the microscope, documented and evaluated. The pictures have been evaluated based on the quality of the rehydration, the preservation of the structure, the quality of staining and the preservation of details. To facilitate the evaluation these criteria have been compared to recent samples.

Aim of this study was to test the effect of different rehydration solutions on the ancient tissue samples in terms of preservation, rehydration and staining quality. An optimal processing of all samples is a prerequisite for a good interpretation of the results.

Our research indicates that different types of tissue, but also the different types of mummies equally treated produce different paleohistological results following our evaluation criteria. This may be on the one hand due to the various decomposition grades of different tissue samples which for sure influence the results, it may be but also due to effect of the rehydration solution on the different types of the mummified tissues. Our presented results clearly underline that a general rehydration treatment cannot be applied on different mummified tissues. Thus a specific treatment of samples in terms of rehydration considering the mummy type is needed.

Based on our results some recommendations for paleohistology can be given (see: Tabelle 23: Empfehlungen zur Rehydrierung). Especially the results of the “negative control” make the need of an rehydration of ancient soft tissues questionable. Unexpectedly, the "negative control" of the samples produced generally very good results. Thus we recommend to include in paleohistological analysis always in addition

## Summary

a negative control. A more important finding is the fact that the methodology of paleohistology has to be different to recent medical histological analysis. Modifying the exposure times between fixation and embedding in paraffin from 9 h and 15 min to 2 hours yielded an amazing result, the collagen tissue was good and evenly swollen, not torn and much better preserved. Also the time between paraffin removal and staining was changed from 6 min to fast immersion of the slides in the appropriate solutions. The results were much better regarding the structural integrity of the section. These results justify the need for further adaptation of the histological methods to ensure an optimal study in paleohistology.

## 7 Literaturverzeichnis

ACADEMIC DICTIONARIES AND ENCYCLOPEDIAS. Online in: <http://de.academic.ru/dic.nsf/dewiki/521646> (11.12.10). Im Text: [ACADEMIC DICTIONARIES AND ENCYCLOPEDIAS]

ADLER C. P. Knochen. In: Histopathologie (Thomas C., Hrsg.), Schattauer GmbH, Stuttgart, 2001; 367-368. Im Text: [ADLER, 2001]

ALLISON M.J., GERSZTEN E., MARTINEZ A.J., KLURFIELD M.S. Generalized Connective Tissue Disease in a Mummy from the Huari Culture (Peru). In: Bulletin of the New York Academy of Medicine, 1977, Vol. 53 (3); 292-301. Im Text: [ALLISON et al., 1977]

AUFDERHEIDE A.C. Soft Tissue Paleopathology -An Emerging Subspecialty. In: Human Pathology, 1981, Vol. 12 (10), 865-867. Im Text: [AUFDERHEIDE, 1981]

AUFDERHEIDE A.C., RODRIGUEZ-MARTIN C. Genesis of Paleopathology. In: The Cambridge Encyclopedia of Human Pathology (Cambridge University Press, New York, Hrsg.). Cambridge University Press, New York, 1998; 3-5. Im Text: [AUFDERHEIDE und RODRIGUEZ-MARTIN, 1998].

AUFDERHEIDE A.C. Mummy study methodology. In: The Scientific Study of Mummies (Cambridge University Press, New York, Hrsg.). Cambridge University Press, New York, 2003; 368-374. Im Text: [AUFDERHEIDE (a), 2003]

AUFDERHEIDE A.C. Soft tissue taphonomy. In: The Scientific Study of Mummies (Cambridge University Press, New York, Hrsg.). Cambridge University Press, New York, 2003; 287-321. Im Text: [AUFDERHEIDE (b), 2003]

AUFDERHEIDE A.C. The geography of mummies. In: The Scientific Study of Mummies (Cambridge University Press, New York, Hrsg.). Cambridge University Press, New York, 2003; 72-276. Im Text: [AUFDERHEIDE (c), 2003]

## Literaturverzeichnis

AUFDERHEIDE A.C. Peat bogs In: The Scientific Study of Mummies (Cambridge University Press, New York, Hrsg.). Cambridge University Press, New York, 2003; 172-174. Im Text: [AUFDERHEIDE (d), 2003]

BEREUTER L. T., MIKENDA W., REITER C. Iceman`s Mummification- Implications from Ifrared Spectroscopical and Histological Studies. Chemistry- A European Journal, 1997, Vol. 3, 1032-1038. Im Text: [BEREUTER et al., 1997]

BIANUCCI R., BROTHWELL D., VAN DER SANDEN W., et. al. Evidence of dyschondrosteosis and dicrocoeliasis in a bog body from the Netherlands, 2012. Im Text: [BIANUCCI , et. al., 2012]

BÖCK P. PAS-Reaktion. In: Romeis Mikroskopische Technik, 17., neu bearbeitete Auflage, (P. Böck Hrsg.), Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1989; 393-443. Im Text: [BÖCK, 1989]

BROTHWELL D.R., SANDISON A.T., GRAY P.H.K. Human biological observations on a Guanche mummy with anthracosis. American Journal of Physical Anthropology, 1969, Vol. 30(3); 333-347. Im Text: [BROTHWELL et al., 1969]

BURCK H.C. Die Grundbegriffe. In: Histologische Technik-Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis. (Burck H.C., Hrsg.). Georg Thieme Verlag Stuttgart, zweite überarbeitete Auflage 1969; 26-27. Im Text: [BURCK, 1969]

CHANG B.S., UHM C.S., PARK C.H., KIM H.K., LEE G.Y., CHO H.H., KIM M.J., CHUNG Y.H., SONG K.W., LIM D.S., SHIN D.H. Preserved skin structure of a recently found fifteenth-century mummy in Daejeon, Korea. Journal of Anatomy, Vol. 209(5), 2006, 671-680. Im Text: [CHANG et al., 2006]

COCKBURN A., BARRACO R.A., REYMAN T.A., PECK W.H. Autopsy of an Egyptian Mummy. In: Science Vol. 187 (4182), 1975, 1155-1160. Im Text: [COCKBURN et al., 1977]

## Literaturverzeichnis

COCKBURN A. Introduction. In: Mummies, Disease & Ancient Cultures, (Cambridge University Press, UK, Hrsg.), Cambridge University Press, UK, 1998; 1-12. Im Text: [COCKBURN, 1998]

DAVID R., DENTON J. Slices of mummy: a histologist's perspective. In: Egyptian Mummies and Modern Science, (Cambridge University Press, New York, Hrsg.), Cambridge University Press, New York, 1984; 101-105. Im Text: [DAVID und DENTON, 1984]

DAVID R.A. The background of the Manchester Mummy Project. In: Egyptian Mummies and Modern Science, (Cambridge University Press, New York, Hrsg.), Cambridge University Press, New York, 1984; 3-9. Im Text: [DAVID, 1984]

DAVID R.A. Egyptian mummies: an overview. In: Egyptian Mummies and Modern Science, (Cambridge University Press, New York, Hrsg.), Cambridge University Press, New York, 1984; 10-18. Im Text: [DAVID (b), 1984]

DETTMEYER R.B., VERHOFF M. A. Thanatologie. In: Rechtsmedizin, Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2011, 14-19. Im Text: [DETTMEYER UND VERHOFF, 2011]

DORAN G.H., DICKEL D.N., BALLINGER W.E., AGEE O.F., LAIPIS P.J., HAUSWIRTH W. Anatomical, Cellular and Molecular Analysis of 8000-Year-Old Human Brain Tissue from the Windover Archaeological Site. In: Nature, 1986, Vol.: 323; 803-806. Im Text: [DORAN et al., 1986]

ENGELHARDT S. Muskeln, Knochen und Gelenke. In: Biologie, Anatomie, Physiologie, (Menche N., Hrsg.), Urban & Fischer, München-Jena, 2003; 85-88. Im Text: [ENGELHARDT, 2003]

FISCHER C. Bog bodies of Denmark and northwestern Europe. In: Mummies, Disease & Ancient Cultures, (Cambridge University Press, UK, Hrsg.), Cambridge University Press, UK, 1998; 237-260. Im Text: [FISCHER, 1998]

FLEURY K. The Mummies of Egypt. In: Mummies, Rosen Publishing Group, 2007, 6. Im Text: [FLEURY, 2007]

## Literaturverzeichnis

FORNACIARI G. Italian Mummies. In Mummies, Disease & Ancient Cultures, (Cambridge University Press, UK, Hrsg.), Cambridge University Press, UK, 1998; 266-281. Im Text: [FORNACIARI, 1998]

GARBER O. Herkunft und Geschichte von Ötzi 3. In: Persönliches e-Mail. Im Text: [GARBER , PERSÖNLICHE MITTEILUNG].

GIACOMETTI L., CHIARELLI B. The Skin of Egyptian Mummies. A Study in Survival. Archives of Dermatology, 1968, Vol. 97(6), 712-716. Im Text: [GIACOMETTI, CHIARELLI, 1968]

GRAF W. Preserved Histological Structures in Egyptian Mummy Tissues and Ancient Swedish Skeletons. In: Acta Anatomica, 1949, Vol.: 8; 236-250. Im Text: [GRAF, 1949]

HASEL H., MENCHE N. Kapitel 18: Verdauungssystem, Ernährung und Stoffwechsel und Kapitel 19. (Harnsystem, Wasser -und Elektrolythaushalt). In: Biologie, Anatomie, Physiologie, (Menze N., Hrsg.), Urban & Fischer, München-Jena, 2003; 303-305. Im Text: [HASEL und MENCHE (a), 2003]

HASEL H., MENCHE N. Kapitel 19: Harnsystem, Wasser -und Elektrolythaushalt. In: Biologie, Anatomie, Physiologie, (Menze N., Hrsg.), Urban & Fischer, München-Jena, 2003; 328- 332. Im Text: [HASEL und MENCHE (b), 2003]

HENSSGE C, MADEA B. unter Mitarbeit von BENECKE M., BERG S., GEYH M.A., KARGER B., KRAUSE D., LIGNITZ E., ROTHSCHILD M.A. Späte Leichenerscheinungen- Fettwachsbildung. In: Handbuch gerichtliche Medizin, (Brinkmann B, Madea B., Hrsg.), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2004; 160-162. Im Text: [HENSSGE und MADEA, 2004]

HESS M.W., KLIMA G., PFALLER K., KÜNZEL K.H., GABER O. Histological investigations on the Tyrolean Ice Man. American. Journal of Physical Anthropology, 1998, Vol. 106 (4), 521-532. Im Text: [HESS et al., 1998]

## Literaturverzeichnis

KRANKENHAUSPROTOKOLL DER AUTONOMEN PROVINZ BOZEN-SÜDTIROL, SANITÄTSBETRIEB BOZEN; ABTEILUNG FÜR PATHOLOGISCHE ANATOMIE UND HISTOLOGIE (PROZEDURPROTOKOLL); Titel: Istochimica-Esecuzione di colorazioni speciali, Hämatoxylin-Eosin Färbung, Giemsa, Grocott (Silbermethenamin), PAS; 27-45. Im Text: [KRANKENHAUSPROTOKOLL DER AUTONOMEN PROVINZ BOZEN-SÜDTIROL, 2003, SIEHE ANHANG]

LATSCHA H.P., KAZMAIER U., KLEIN H.A. Kohlenhydrate. In: Chemie für Biologen, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2. Auflage 2005, 604-609. Im Text: [LATSCHA et al., 2005]

LEWIN P.K. Current technology in the examination of ancient man. In: Human Mummies, (Spindler K. Hrsg.) Springer Verlag, Wien, New York, 1996; 9-10. Im Text: [LEWIN, 1996]

MAAT J.R., VAN DEN BOS R.P.M., AARENTS M.J. Manual for the preparation of ground sections for the microscopy of bone tissue. Barge`s Anthropologica, 2000, Vol. 7; 1-17. Im Text: [MAAT et al., 2000]

MAIXNER F., GRUMER A., PICHLER B., PIOMBINO-MASCALI D., SCHROFFENEGGER F., EGARTER-VIGL E., ZINK A. Histological Investigation of Human Mummified Remains – Potential and Drawbacks of the Analysis of Ancient Soft Tissue Material. Power Point Präsentation in San Diego 2011. Im Text: [MAIXNER in preparation]

MEKOTA A.M., VERMEHREN M. Determination of optimal rehydration, fixation and staining methods for histological and immunohistological analysis of mummified soft tissues. In: Biotechnic & Histochemistry 2005, 80(1), Department of Biology I, Biodiversity Research/Anthropology, Ludwig-Maximilians-University München, Germany. 2004; 7-13. Im Text: [MEKOTA und VERMEHREN, 2004]

MEKOTA A. M. Rehydrierungsmethoden. In: Effizienz verschiedener Rehydrierungs- und Fixierungsmethoden bei der histologischen, histochemischen und immunhistologischen Untersuchung konservierter Weichgewebe von ägyptischen Mumien. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades an der Fakultät für

## Literaturverzeichnis

Biologie der Ludwig-Maximilians-Universität München, München, 2002. Im Text: [MEKOTA, 2002]

MONSALVE M. V., HUMPHREY E., WALKER D. C., CHEUNG C., VOGL W., NIMMO M. Brief communication: State of preservation of tissues of ancient human remains found in a glacier in Canada. American Journal of Physical Anthropology, 2008, Vol. 137(3), 348-355. Im Text: [MONSALVE et al. 2008]

MULISCH M., WELSCH U. (a). Fixierungen für Licht-und Elekrtonenmikroskopie. In: Romeis Mikroskopische Technik, ( Mulisch M. und Welsch U., Hrsg.), Spektrum-Verlag, Heidelberg, 18. Auflage, 2010; 91-95, 198-220. Im Text: [MULISCH und WELSCH (a), 2010]

MULISCH M., WELSCH U. (b). Gram-Färbung. In: Romeis Mikroskopische Technik, ( Mulisch M. und Welsch U., Hrsg.), Spektrum- Verlag, Heidelberg, 18. Auflage, 2010; 243-244. Im Text: [MULISCH und WELSCH (b), 2010]

MULISCH M., WELSCH U. (c). Färbemethoden. In: Romeis Mikroskopische Technik, ( Mulisch M. und Welsch U., Hrsg.), Spektrum- Verlag, Heidelberg, 18. Auflage, 2010; 198-220. Im Text: [MULISCH und WELSCH (c), 2010]

MULISCH M., WELSCH U. (d) .Hämalaun-Eosin- Färbung. In: Romeis Mikroskopische Technik, (Mulisch M. und Welsch U., Hrsg.), Spektrum- Verlag, Heidelberg, 18. Auflage, 2010; 214. Im Text: [MULISCH und WELSCH (d), 2010]

MULISCH M., WELSCH U. (e) .Giemsa- Färbung. In: Romeis Mikroskopische Technik, (Mulisch M. und Welsch U., Hrsg.), Spektrum- Verlag, Heidelberg, 18. Auflage, 2010; 249. Im Text: [MULISCH und WELSCH (d), 2010]

MÜLLER K.M., THOMAS C. Atmungsorgane, Lunge. In: Histopathologie (Thomas C., Hrsg.), Schattauer GmbH, Stuttgart, 2001; 78-91 Im Text: [MÜLLER und THOMAS, 2001]

PABST M.A., LETOFSKY-PAPST I., BOCK E., MOSER M., DORFER L., EGARTER-VIGL E., HOFER F. The tattoos of the Tyrolean Iceman: a light

## Literaturverzeichnis

microscopical, ultrastructural and element analytical study. *Journal of Archeological Science*, 2009, Vol. 36(10), 2335-2341. Im Text: [PABST et al., 2009]

PETSKA J.M., BARVENCICK F., BEIL F.T., MARSHALL R.P., JOPP E., SCHILLING A.F., BAUEROCHSE A., FANSA M., PÜSCHEL K., AMLING M. Skeletal analysis and comparison of bog bodies from Northern European peat bogs. In: *Naturwissenschaften*, 2010, Vol. 97, 393-404. Im Text: [PETSKA et al., 2010]

PIOMBINO-MASCALI D., MALLEGNI F. On mummification and embalming in Sicily. In: *Mummies and Science: World Mummy Research*, Santa Cruz de Tenerife (Atoche Peña P., Rodriguez M.C., Ramirez Rodriguez M.A. Hrsg.), 2008, 115-121. Im Text: [PIOMBINO-MASCALI, MALLEGNI, 2008]

POST P.W., DANIELS F. Histological and histochemical examination of American Indian scalps, mummies, and shrunken head. *Journal of Physical Anthropology*, 1969, Vol. 30(2), 269-294. Im Text: [POST und DANIELS, 1969]

PSCHYREMBEL W. Formaldehyd. In: *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*, (Pschyrembel Willibald, Hrsg.), Walter de Gruyter, Berlin, New York, 254. Auflage, 1982; 376. Im Text: [PSCHREMBEL (a), 1982]

PSCHYREMBEL W. Histologie. In: *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*, (Pschyrembel Willibald, Hrsg.), Walter de Gruyter, Berlin, New York, 254. Auflage, 1982; 496. Im Text: [PSCHREMBEL (b), 1982]

RABINO- MASSA E., CHIARELLI B. The Histology of naturally dessicated and mummified bodies. *Journal of Human Evolution*, 1972, Vol. 1(3), 259-260. Im Text: [RABINO-MASSA und CHIARELLI, 1972]

RENZ-POLSTER H. Die Lunge. In: *Biologie, Anatomie, Physiologie*, (Menche N., Hrsg.), Urban & Fischer, München-Jena, 2003; 273-272. Im Text: [RENZ-POLSTER, 2003]

RUFFER M. A. (1921). Histological studies on Egyptian mummies. In: *Studies in the paleopathology of Egypt*. University of Chicago Press, Chicago; 1921. 49-89. Im Text: [RUFFER, 1921]

## Literaturverzeichnis

SANDISON A. T. (1955). The histological examination of mummified material. *Stain Technology* 30: 277-283. Im Text: [SANDISON, 1955]

SANDISON A. T. Staining of Vascular Elastic Fibres in Mummified and Dried Human Tissues. *Nature*, Vol. 198(4880), 597. Im Text: [SANDISON, 1963]

SANDISON A. T.. Evidence of infective disease. *Journal of Human Evolution*, 1972; Vol. 1(2); 213-224. Im Text: [SANDISON, 1972]

SCHMIDT S. Die Haut. In: *Biologie, Anatomie, Physiologie*, (Menche N., Hrsg.), Urban & Fischer, München-Jena, 2003; 139-143. Im Text: [SCHMIDT (a), 2003]

SCHMIDT S. Das Blut. In: *Biologie, Anatomie, Physiologie*, (Menche N., Hrsg.), Urban & Fischer, München-Jena, 2003; 220-227. Im Text: [SCHMIDT (b), 2003]

SCHROFFENEGGER F. Interview über die Ergebnisse aller Proben bezüglich des Erhaltungszustandes und eventueller pathologischer Veränderungen des Gewebes, KH Bozen, 2012 . Im Text: [SCHROFFENEGGER, 2012]

SCOTT J.W., HORNE P.D., HART G.D., SAVAGE H. Gross Anatomic and Miscellaneous Studies. In: *Canadian Medical Association Journal*, 1977, Vol.: 117; 463. Im Text: [SCOTT et al., 1977]

SHAW A.F.B. A Histological Study of the Mummy of the Har-Mose, the Singer of the Eigtheenth Dynasty (ca. 1490 B.C.). In: *Journal of Pathology and Bakteriology*, 1938; Vol.: 47; 115-123. Im Text: [SHAW, 1938]

SPINDLER K., WILFING H., RASTBICHLER-ZISSErnig E., ZUR NEDDEN D. NOTHDURFTER H. Icemans last week. In: *Human Mummies- The man in the Ice*, (Spindler K., Hrsg.), Springer Verlag Wien, 1996; 249-274. Im Text: [SPINDLER et al., 1996]

STÜCKER M., BECHARA F .G., BACHARACH-BUHLES M., PIEPER P., ALTMEYER P. Was bleibt von der Haut nach 2000 Jahren Moor? *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*, Apr, 2001; Vol.52(4); 316-21. Im Text: [STÜCKER et al., 2001]

## Literaturverzeichnis

TAPP E. Histology and Histopathology of the Manchester Mummies. In: Science in Egyptology (David A.R. Hrsg.), Manchester University Press, Manchester, 1986, 347-350. Im Text: [TAPP, 1986].

THOMAS C. Niere. In: Histopathologie (Thomas C., Hrsg.), Schattauer GmbH, Stuttgart, 2001; 187. Im Text: [THOMAS, 2001]

THOMAS C. DIENES H.P., Leber. In: Histopathologie (Thomas C., Hrsg.), Schattauer GmbH, Stuttgart, 2001; 132. Im Text: [THOMAS und DIENES, 2001]

TURZYNSKI A. (2001-2011). Pathologie- Histologie. Online im Internet: <http://www.pathologen-luebeck.de/Methoden/Histologie/histologie.html> (11-12-05). Im Text: [TURZYNSKI, 2001-2011]

UNI PROTOKOLLE. Online im Internet: <http://www.uni-protokolle.de/Lexikon/Mumie.html>. Im Text: [uni-Protokolle.de]

VERBOV J. L. Mummified Skin- An Exercise in Preservation. International Journal of Dermatology, 1983, Vol. 22(1), 46-60. Im Text: [VERBOV, 1983]

VERBOV J. L. The Skin of Egyptian Mummies. In: Science in Egyptology (David A.R. Hrsg.), Manchester University Press, Manchester, 1986, 355-359. Im Text: [VERBOV, 1986]

WALKER R., PARSCHKE F., BIERBRIER M., MC KERROW J. Tissue Identification and Histological Study of Six Lung Specimens from Egyptian Mummies. American Journal of Physical Anthropology, 1987, Vol. 72(1), 43-48. [WALKER et al., 1987]

WIEST I., PARSCHE F., NERLICH A. Technical requirements and limitations of collagen immunohistochemistry in histological bone and mummy tissue. In: Homo, Band 45, Urban & Fischer Verlag, 1994; 641. Im Text: [WIEST et al, 1994]

ZIMMERMAN M. R., TEDFORD R.H. Histologic structures preserved for 21,300 years. Science, 1967, 183-184. Im Text: [ZIMMERMANN und TEDFORD, 1967]

## Literaturverzeichnis

ZIMMERMANN M. R. Histological investigation of experimentally mummified tissue. American Journal of Physical Anthropology, 1972, Vol. 37(2), 271-280. Im Text: [ZIMMERMANN, 1972]

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau der Lunge [Modifiziert nach: <a href="http://s.ndimg.de/image_gallery/new_netdotor/07/id_71590_102007.jpg">http://s.ndimg.de/image_gallery/new_netdotor/07/id_71590_102007.jpg</a> ]	6
Abbildung 2: Aufbau der Haut [Modifiziert nach: <a href="http://de.wikipedia.org/wiki/Datei:HautAufbau.png">http://de.wikipedia.org/wiki/Datei:HautAufbau.png</a> ]	8
Abbildung 3: Aufbau eines Leberläppchens [Modifiziert nach: <a href="http://www.medizinfo.de/leber/anatomie/leberfeinbau.shtml">http://www.medizinfo.de/leber/anatomie/leberfeinbau.shtml</a> ]	9
Abbildung 4: Aufbau der Niere [Modifiziert nach: <a href="http://www.jameda.de/gesundheits-lexikon/niere/">http://www.jameda.de/gesundheits-lexikon/niere/</a> ]	9
Abbildung 5: Aufbau des Knochens [Modifiziert nach: <a href="http://www.der-mensch.net/knochenlehre/Knochenaufbau/">http://www.der-mensch.net/knochenlehre/Knochenaufbau/</a> ]	10
Abbildung 6 Mumien aus Piraino [Zink, Piombino-Mascoli]	15
Abbildung 7: Piraino 6, Lunge, NEG, HE, x40	46
Abbildung 8: Piraino 6, Lunge, Solution III, HE, x40	46
Abbildung 9 Piraino 6, Lunge, Solution II, HE, x40	47
Abbildung 10: Piraino, 6 Lunge, Ruffer I, HE, x10	47
Abbildung 11: Piraino 6, Lunge, Ruffer II, HE, x40	47
Abbildung 12: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x40	47
Abbildung 13: Piraino 6, Lunge, Wiest et al., PAS, x40	48
Abbildung 14: Piraino 6, Lunge, Sandison, HE, x40	48
Abbildung 15: Piraino 6, Lunge, NEG, HE, x4	48
Abbildung 16: Piraino 6, Lunge, Solution III, HE, x4	48
Abbildung 17: Piraino 6, Lunge, Solution II, HE, x4	49
Abbildung 18: Piraino 6, Lunge, Ruffer I, HE, x10	49
Abbildung 19: Piraino 6, Lunge, Ruffer, II, HE, x10	49
Abbildung 20: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x10	49
Abbildung 21: Piraino 6, Lunge, Wiest et al., HE, x10	50
Abbildung 22: Piraino 6, Lunge, Sandison, HE, x10	50
Abbildung 23: Piraino 6, Lunge, NEG, HE, x40	51
Abbildung 24: Piraino 6, Lunge, Solution III, HE, x40	51
Abbildung 25: Piraino 6, Lunge, Solution II, HE, x40	51

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 26: Piraino 6, Ruffer I, HE, x40	51
Abbildung 27: Piraino 6, Lunge, Ruffer II, HE, x40	52
Abbildung 28: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x40	52
Abbildung 29: Piraino 6, Lunge, Wiest et al., HE, x40	52
Abbildung 30: Piaino 6, Lunge, Sandison, HE, x40	52
Abbildung 31: Piraino 6, Lunge, NEG, PAS, x40	53
Abbildung 32: Piraino 6, Lunge, Solution III, PAS, x40	53
Abbildung 33: Piraino 6, Lunge, Solution II, PAS, x10	53
Abbildung 34: Piraino 6, Lunge, Ruffer I, PAS, x40	53
Abbildung 35: Piraino 6, Lunge, Ruffer II, PAS, x40	54
Abbildung 36: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, PAS, x40	54
Abbildung 37: Piraino 6, Lunge, Wiest et al., PAS, x40	54
Abbildung 38: Piraino 6, Lunge, Sandison, PAS, x40	54
Abbildung 39: Piraino 6, Lunge, NEG, Grocott, x100	55
Abbildung 40: Piraino 6, Lunge, Solution III, HE, x100	55
Abbildung 41: Piraino 6, Lunge, Solution II, HE, x100	55
Abbildung 42: Piraino 6, Lunge, Rufer I, HE, x100	55
Abbildung 43: Piraino 6, Lunge, Ruffer II, HE, x40	56
Abbildung 44: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x100	56
Abbildung 45: Piraino 6, Lunge, Wiest et al., HE, x100	56
Abbildung 46: Piraino 6, Lunge, Sandison, HE, x40	56
Abbildung 47: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, Giemsa, x40	57
Abbildung 48: Piraino 6, Lunge, NEG, PAS, x100	57
Abbildung 49: Piraino 6, Lunge, Solution III, PAS, x100	57
Abbildung 50: Piraino 6, Lunge, NEG, PAS, x100	57
Abbildung 51: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, HE, x 100	57
Abbildung 52: Piraino 6, Lunge, Zimmermann, PAS, x100	57
Abbildung 53: Piraino 6, Lunge, Ruffer I, PAS, x100	58
Abbildung 54: Piraino 6, Lunge, Ruffer , PAS, x100	58
Abbildung 55: Piraino 6, Lunge, Solution II, PAS, x100	58
Abbildung 56: Piraino 6, Lunge, Ruffer II, Giemsa, x100	58

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 57: Piraino 6, Lunge, Solution III, Giemsa, x40	58
Abbildung 58: Rezente Lunge, HE, x4	59
Abbildung 59: Rezente Lunge, x4	59
Abbildung 60: Rezente Lunge, HE, x 100	59
Abbildung 61: Piraino 18, Haut, NEG, HE, x4	63
Abbildung 62: Piaino 18, Haut, Solution III, HE, x4	63
Abbildung 63: Piraino 18, Haut, Wiest et al., HE, x4	63
Abbildung 64: Piraino 18, Haut, Sandison, HE, x10	63
Abbildung 65: Piraino 18, Haut, Glycerin/ 4% Formaldehyde, HE	64
Abbildung 66: Piraino 18, Haut, Glycerin/ 4% Formaldehyde, HE	64
Abbildung 67: Piraino 18, Haut, Glycerin/ 4% Formaldehyde, HE	64
Abbildung 68: Piraino 18, Haut, Glycerin/ 4% Formaldehyde, HE	64
Abbildung 69: Piraino 18, Haut, NEG, PAS, x100	65
Abbildung 70: Natürl. Eismumie, Haut, NEG, HE, x10	68
Abbildung 71: Natürl. Eismumie, Haut, Solution III, HE, x4	68
Abbildung 72: Natürl. Eismumie, Haut, Wiest et al., HE, x4	68
Abbildung 73: Natürl. Eismumie, Haut, Sandison, HE, x4	68
Abbildung 74: Natürl. Eismumie, Haut, NEG, PAS, x100	69
Abbildung 75: Natürl. Eismumie, Haut, NEG, Giemsa, x100	69
Abbildung 76: Natürl. Eismumie, Haut, Solution III, HE, x100	69
Abbildung 77: Ötzi 3, Haut, NEG, HE, x10	72
Abbildung 78: Ötzi 3, Solution III, HE, x10	72
Abbildung 79: Ötzi 3, Haut, Wiest et al, PAS, x10	72
Abbildung 80: Ötzi 3, Haut, Sandison, HE, x10	72
Abbildung 81: Ötzi 3, Haut, NEG, PAS, x40	73
Abbildung 82: Ötzi 3, Haut, Solution III, PAS, x100	73
Abbildung 83: Ötzi 3 Haut, Wiest et al., PAS, x100	73
Abbildung 84: Ötzi 3, Haut, Sandison, PAS, x100	73
Abbildung 85: Ötzi 3, Haut, Solution III, HE, x100	73
Abbildung 86: Ötzi 3, Haut, Solution III, Giemsa, x40	74
Abbildung 87: Rezente Haut, HE, x2	76

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 88: Rezente Haut, HE, x4	76
Abbildung 89: Rezente Haut, HE, x10	76
Abbildung 90: Rezente Haut, HE, x10	76
Abbildung 91: Rezente Haut, HE, x10	76
Abbildung 92: Zweeloo Frau, Knochen	78
Abbildung 93: Zweeloo Frau, Knochen	78
Abbildung 94: Rezenter Knochen, HE, x2	78
Abbildung 95: Rezenter Knochen, HE, x10	78
Abbildung 96: Rezenter Knochen, HE, x40	79
Abbildung 97: Rezenter Knochen, HE, x100	79
Abbildung 98: Zweeloo Frau, Niere	79
Abbildung 99: Zweeloo Frau, Niere, Solution III, Gram	79
Abbildung 100: Zweeloo Frau, Niere, Solution III, Gram	80
Abbildung 101: Rezente Niere, HE, x2	80
Abbildung 102: Rezente Niere, HE, x10	80
Abbildung 103: Rezente Niere, He, x10	81
Abbildung 104: Rezente Niere, HE, x40	81
Abbildung 105: Zweeloo Frau, Leber, Solution III, HE	81
Abbildung 106: Zweeloo Frau, Leber, Solution III, Gram	81
Abbildung 107: Rezente Leber, HE, x4	82
Abbildung 108: Rezente Leber, HE, x10	82
Abbildung 109: Rezente Leber, HE, x10	82

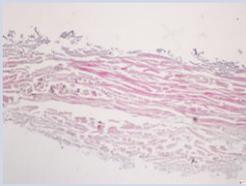
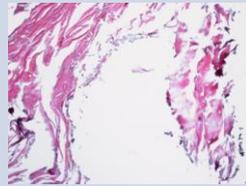
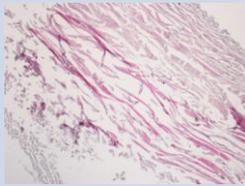
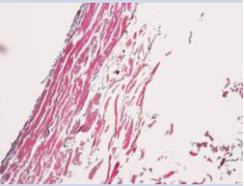
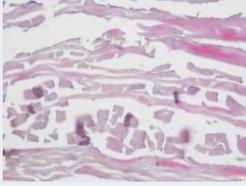
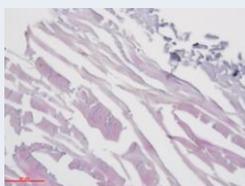
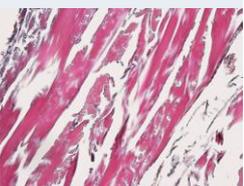
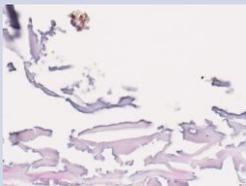
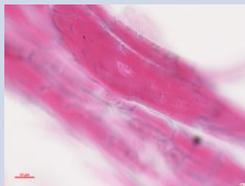
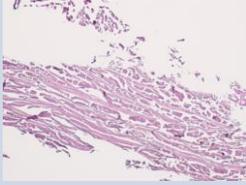
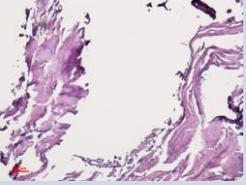
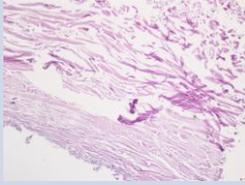
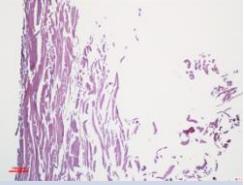
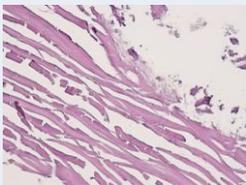
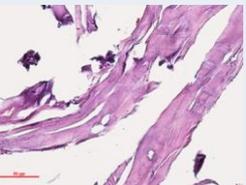
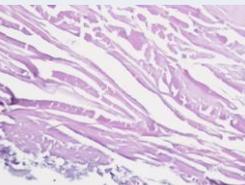
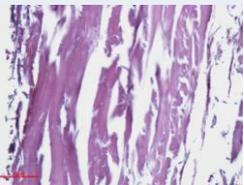
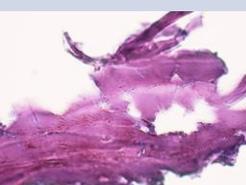
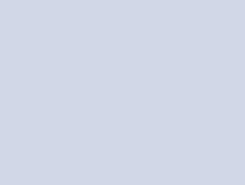
## 9 Diagrammverzeichnis

<b>Diagramm 1: Strukturerehalt aller Proben</b>	<b>84</b>
<b>Diagramm 2: Details aller Proben</b>	<b>85</b>
<b>Diagramm 3: Ergebnisse aller Proben mit Solution III</b>	<b>91</b>
<b>Diagramm 4: Ergebnisse aller Proben mit der NEG</b>	<b>96</b>
<b>Diagramm 5: Ergebnisse aller Proben mit der Wiest et al.</b>	<b>97</b>
<b>Diagramm 6: Ergebnisse aller Proben mit der Sandison</b>	<b>98</b>
<b>Diagramm 7: Ergebnisse aller Proben mit der HE-Färbung</b>	<b>100</b>
<b>Diagramm 8: Ergebnisse aller Proben mit der PAS-Färbung</b>	<b>102</b>
<b>Diagramm 9: Ergebnisse aller Proben mit der Giemsa-Färbung</b>	<b>103</b>
<b>Diagramm 10: Vergleich der Rehydrierungsqualität der Lungenprobe</b>	<b>105</b>
<b>Diagramm 11: Erhaltungszustand der Hautprobe aus Piraino</b>	<b>107</b>
<b>Diagramm 12: Erhaltungszustand der künstlichen Eismumie</b>	<b>108</b>
<b>Diagramm 13: Erhaltungszustand der natürlichen Eismumie</b>	<b>109</b>

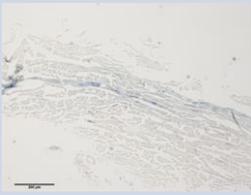
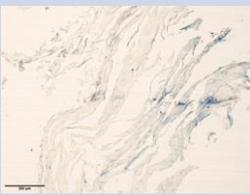
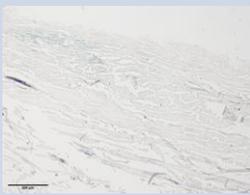
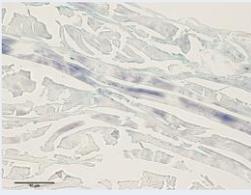
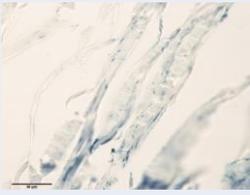
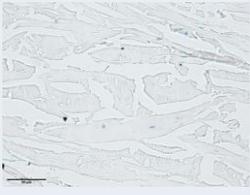
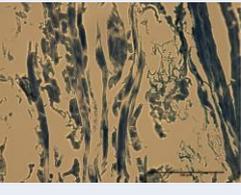
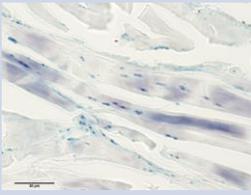
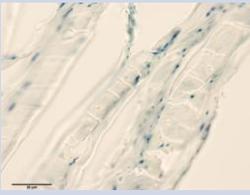
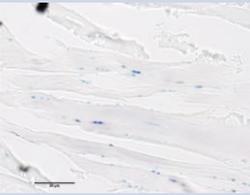
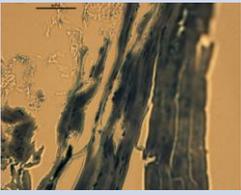
## 10 Tabellenverzeichnis

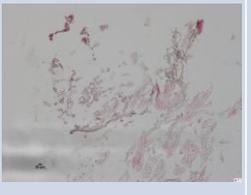
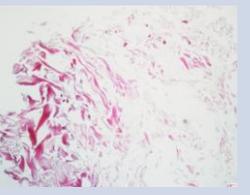
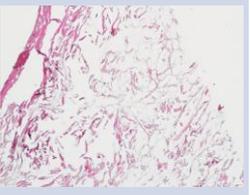
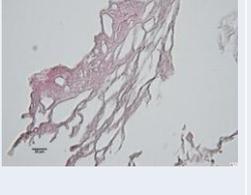
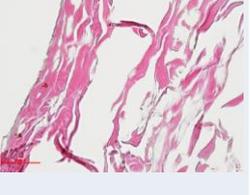
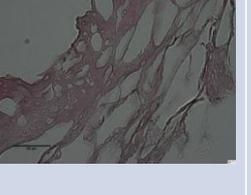
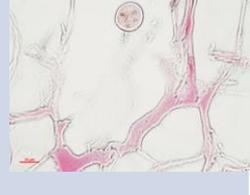
Tabelle 1: Übersicht aller Proben	14
Tabelle 2: Geräte	18
Tabelle 3: Chemikalien	19
Tabelle 4: Laborzubehör	19
Tabelle 5: Softwares	20
Tabelle 6: Rehydrierungslösungen	23
Tabelle 7: Arbeitsschritte zur Dehydrierung	27
Tabelle 8: Reduzierung der Dehydrierungszeiten	28
Tabelle 9: Arbeitsschritte zur Entparaffinierung	30
Tabelle 10: Arbeitsschritte der HE-Färbung [Modifiziert nach dem Krankenhausprotokoll der Autonomen Provinz Bozen-Südtirol, 2003, siehe Anhang]	32
Tabelle 11: Arbeitsschritte der PAS-Färbung [Modifiziert nach dem Krankenhausprotokoll der Autonomen Provinz Bozen-Südtirol, 2003, siehe Anhang]	34
Tabelle 12: Arbeitsschritte für die Giemsa Färbung [Modifiziert nach dem Krankenhausprotokoll der Autonomen Provinz Bozen-Südtirol, 2003, siehe Anhang]	36
Tabelle 13: Arbeitsschritte für die Grocott-Färbung [Modifiziert nach dem Krankenhausprotokoll der Autonomen Provinz Bozen-Südtirol, 2003, siehe Anhang]	38
Tabelle 14: Arbeitsschritte zur Gram-Färbung [MULISCH und WELSCH (b), 2010]	40
Tabelle 15: Modifizierung der Entparaffinierung s- und Dehydrierungszeiten bei der Färbung	40
Tabelle 16: Ergebnisse der Lungenprobe aus Piraino	45
Tabelle 17: Ergebnisse der Trockenmumie 18	66
Tabelle 18: Ergebnisse der natürlichen Eismumie	70
Tabelle 19 Ergebnisse der Künstlichen Eismumie Ötzi 3	75
Tabelle 20: Ergebnisse der Zweeloo Frau	83
Tabelle 21: Empfehlungen zur Rehydrierung	117

**11 Anhang**

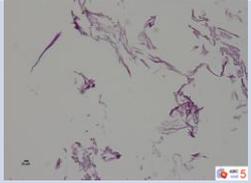
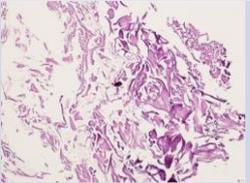
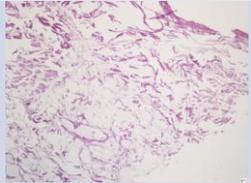
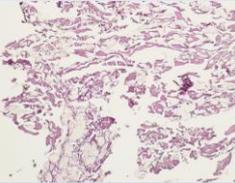
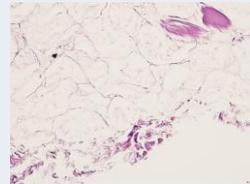
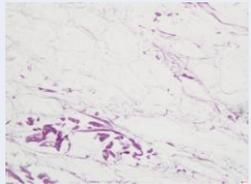
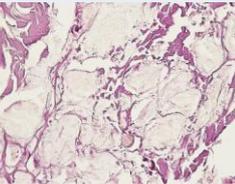
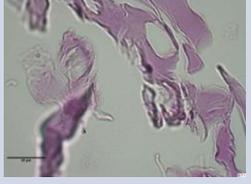
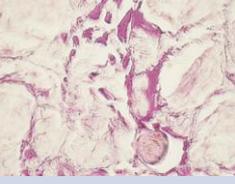
Piraino 18	Sandison	Wiest	SolutionIII	Neg
HE 10x				
HE 40x				
HE 100x				
Piraino 18	Sandison	Wiest	SolutionIII	Neg
PAS 10x				
PAS 40x				
PAS 100x				

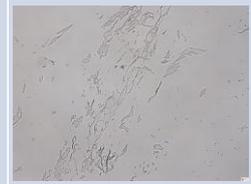
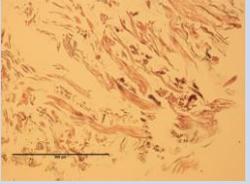
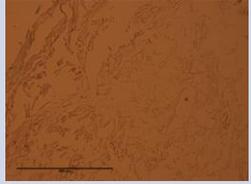
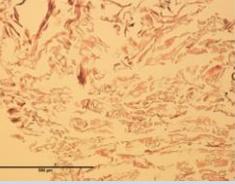
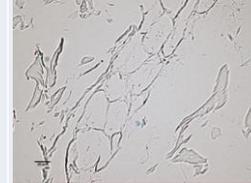
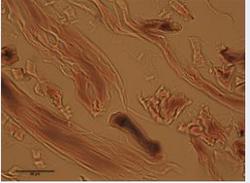
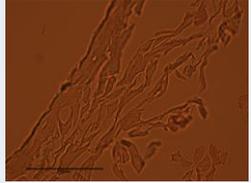
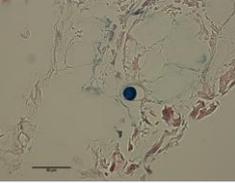
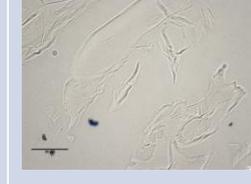
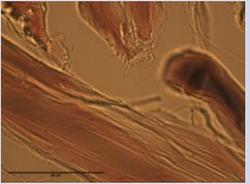
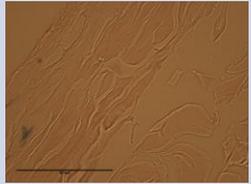
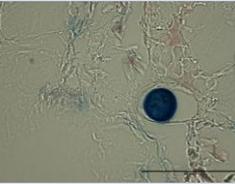
# Anhang

Piraino 18	Sandison	Wiest	SolutionIII	Neg
Giemsa 10x				
Giemsa 40x				
Giemsa 100x				

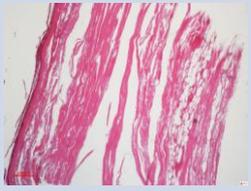
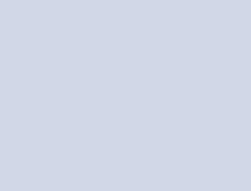
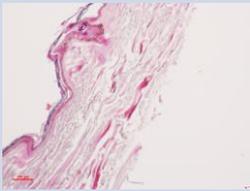
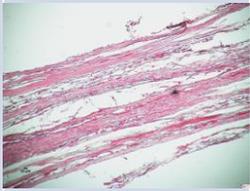
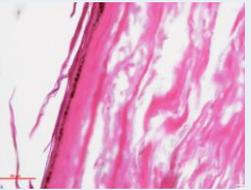
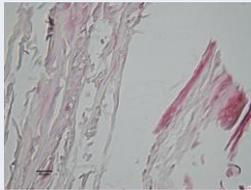
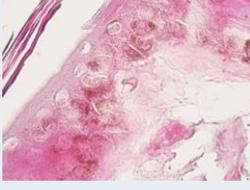
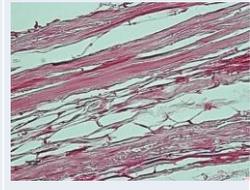
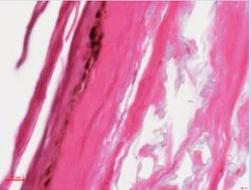
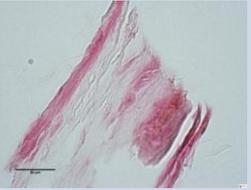
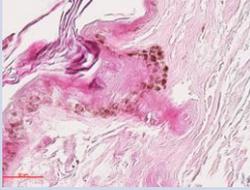
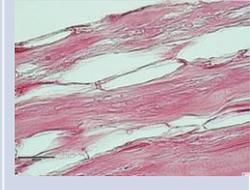
Natürliche Eismumie	Sandison	Wiest	SolutionIII	Neg
HE 10x				
HE 40x				
He 100x				

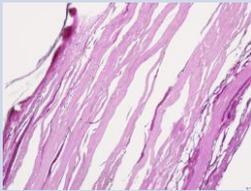
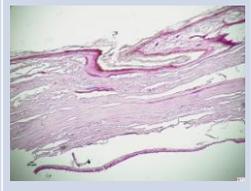
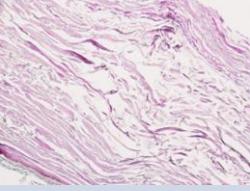
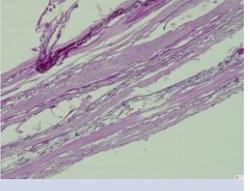
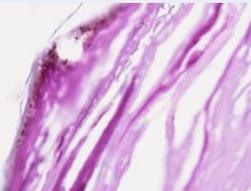
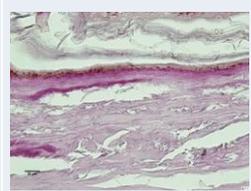
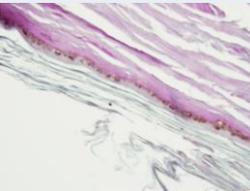
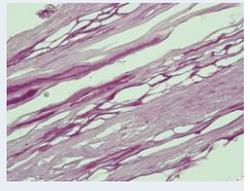
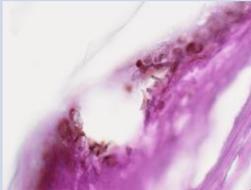
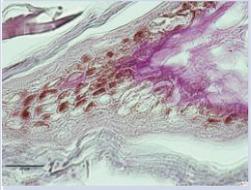
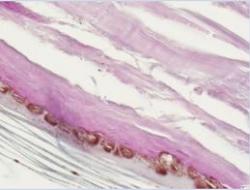
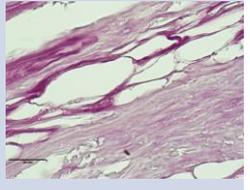
# Anhang

Natürliche Eismumie	Sandison	Wiest	SolutionIII	Neg
PAS 10x				
PAS 40x				
PAS 100x				

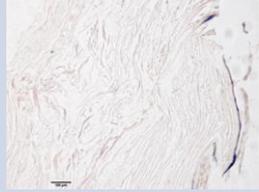
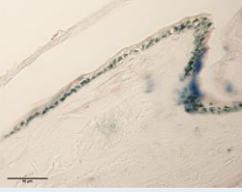
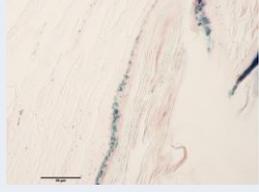
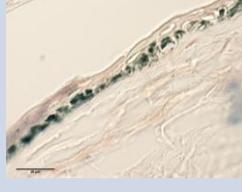
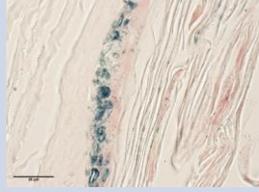
Natürliche Eismumie	Sandison	Wiest	SolutionIII	Neg
GIEMSA 10x				
GIEMSA 40x				
GIEMSA 100x				

# Anhang

Ötzi3	Sandison	Wiest	SolutionIII	Neg
HE 10x				
HE 40x				
He 100x				

Ötzi3	Sandison	Wiest	SolutionIII	Neg
PAS 10x				
PAS 40x				
PAS 100x				

# Anhang

Ötzi3	Sandison	Wiest	SolutionIII	Neg
Giemsa 10x				
Giemsa 40x				
Giemsa 100x				

## Anhang

Alle folgenden Protokolle des Krankenhauses der Autonomen Provinz Bozen- Südtirol sind veränderte Versionen des Standardwerkes „Romeis Mikroskopische Technik“.

PROVINCIA AUTONOMA DI BOLZANO - ALTO ADIGE  
AZIENDA SANITARIA DI BOLZANO



AUTONOME PROVINZ BOZEN - SÜDTIROL  
SANITÄTSBETRIEB BOZEN

Servizio di Anatomia Patologica e Istologia

Abteilung fuer Pathologische Anatomie u.  
Histologie

Procedura / Prozedur	PG 27
<b>Titolo / Titel:</b> ISTOCHIMICA Esecuzione di colorazioni speciali	Rev. 01 del 01/12/2003 Pagina 27 di 68

### Hämatoxylin – Eosin Färbung

Oxidans

Vorbereitung vom **Gill Hämatoxylin**: 52.8 g Aluminiumkaliumsulfat werden mit 0.6 g Natriumjodat in 690 ml AD gelöst. Mit einem Mixer soll das Pulver bei RT gut gelöst werden! 6 g HTX werden in 250 ml Äthylglykol bei RT gelöst. Diese 2 Lösungen (klar durchscheinend) werden zusammengegeben, gemischt und am Ende werden 60 ml Eisessig dazugegeben.

Vorbereitung vom **Eosin** (1%ige wässrige Stock – Lösung): 200 ml dieser Stock – Lösung und 300 ml 96%iger Alkohol und 1 ml Eisessig.

1. Xylol	3 Min	Alle Behälter der Färbemaschine sollten 450 ml Flüssigkeit fassen.
2. Xylol	3 Min	
3. Xylol	3 Min	
4. Xylol	1 Min	<u>Notwendige Gesamtmenge:</u> 5400 ml Xylol 1800 ml Alkohol 100% 1350 ml Alkohol 96% 900 ml Alkohol 80% 450 ml Alkohol 70% 900 ml AD 450 ml Hämatoxylin 450 ml Eosin
5. Alkohol 100%	1 Min	
6. Alkohol 100%	1 Min	
7. Alkohol 96%	1 Min	
8. Alkohol 80%	2 Min	
9. Alkohol 70%	2 Min	
10. AD	2 Min	
11. Gill Hämatoxylin (HTX)	4 Min	
12. AD	1 Min	
13. Fließendes Wasser	10 Min	
14. Alkohol 80%	2 Min	
15. Eosin	4 Min	
16. Alkohol 96%	20 Sek	
17. Alkohol 96%	20 Sek	
18. Alkohol 100%	1 Min	
19. Alkohol 100%	1 Min	
20. Xylol	1 Min	
21. Xylol	2 Min	
22. Xylol	2 Min	

- Die Färbemaschine wird am Montag vormittag gewechselt.
- Alle Flüssigkeiten werden täglich kontrolliert und wenn nötig aufgefüllt.
- Das AD nach dem HTX wird mehrmals am Tag gewechselt.
- Alle Alkohole werden am Mittwoch vormittag gewechselt.
- Das HTX wird in Abständen, mittels Probe (Bläuen), kontrolliert und wenn nötig gewechselt.
- Die Färbemaschine wird am Freitag nachmittag geleert und die Behälter werden in der Geschirrspülmaschine im oberen Abteil eingeordnet. Sehr schmutzige Behälter werden unter fließendem Wasser gespült. In der Geschirrspülmaschine wird ein Programm mit 60°C benutzt.

# Anhang

PROVINCIA AUTONOMA DI BOLZANO - ALTO ADIGE  
AZIENDA SANITARIA DI BOLZANO



AUTONOME PROVINZ BOZEN - SÜDTIROL  
SANITÄTSBETRIEB BOZEN

Servizio di Anatomia Patologica e Istologia

Abteilung fuer Pathologische Anatomie u.  
Histologie

Procedura / Prozedur	PG 45
<b>Titolo / Titel:</b> ISTOCHIMICA Esecuzione di colorazioni speciali	Rev. 01 del 01/12/2003 Pagina 45 di 68

## PAS

**ANWENDUNG:** Die Reaktion mit Perjodsäure und Schiffreagents weist einfach Polysaccharide (Glycogen, Galaktose, Zellulose und Destrose) und neutrale Mukopolysaccharide wie auch Pilze im Gewebe nach.

**FÄRBEDAUER:** 1 Stunde

### ERFORDERLICHE REAGENZIEN:

- Perjodsäure 0.5%
- AD
- Schiffisches Reagens
- Gill HTX

### ZUBEREITUNG DER LÖSUNGEN:

- H<sub>2</sub>IO<sub>6</sub>*
- Perjodsäure 0.5%: 2.5 g Perjodsäure (HIO<sub>4</sub>) und mit AD auf 500 ml auffüllen
  - Schiffisches Reagens: im Handel schon als gebrauchsfertige Lösung.
- IM KÜHLSCHRANK AUFBEWAHREN. Oder es wird auf diese Weise hergerichtet:
- Lösung A: 0.5 g Pararosanylin in 15 ml HCl 1N lösen (1 ml 37%ige HCl + 9 ml AD)
  - Lösung B: 0.5 g Natriumbisulfat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) in 85 ml AD lösen
- Die Lösungen A und B einrühren und 24 Stunden stehen lassen; dann 0.3 g Aktivkohle dazugeben. Gut um rühren und filtrieren. Die Lösung ist anfänglich leicht rosa, wird dann aber wasserklar. IM KÜHLSCHRANK AUFBEWAHREN.

### FÄRBEVORGANG:

1. Schnitte entparaffinieren und in AD bringen.	
2. In Perjodsäure 0.5% die Schnitte einstellen.	10 Min.
3. 2 mal in AD spülen.	2 Min.
4. In Schiffisches Reagens die Schnitte einstellen.	15-30 Min.
5. Lauwarm wässern.	10 Min.
6. In Gill HTX die Schnitte einstellen.	1 Min.
7. Lauwarm wässern.	10 Min.
8. Entwässern in 60%igen, 80%igen, 96%igen und 100%igen Alkohol.	1 Min.
9. Über Xylol in Balsam einschließen.	

*HTX: Hamakoxillen*

### ERGEBNIS:

- Mukopolysaccharide, einfache Polysaccharide, Kohlenhydrate und Pilze → rot

# Anhang

PROVINCIA AUTONOMA DI BOLZANO - ALTO ADIGE  
AZIENDA SANITARIA DI BOLZANO



AUTONOME PROVINZ BOZEN - SÜDTIROL  
SANITÄTSBETRIEB BOZEN

Servizio di Anatomia Patologica e Istologia

Abteilung fuer Pathologische Anatomie u.  
Histologie

Procedura / Prozedur	PG 29
<b>Titolo / Titel:</b> ISTOCHIMICA Esecuzione di colorazioni speciali	Rev. 01 del 01/12/2003 Pagina 29 di 68

## Giemsa

**ANWENDUNG:** Selektive Methode zur Differenzierung von Zelltypen, auch zur Erkennung von Parasiten im Gewebe geeignet; besonders aber angewandt zur Darstellung der Lymphohämatopoiese. Oft wird diese Färbung auch zur Darstellung des Endothelretikulums gebraucht. Die GiemsaLösung ist ein komplexes Gemisch aus Eosin-Methylenblau, Methylen azur und Methylenviolett. Als Lösungsmittel werden Methanol und Glycerin verwendet. Die Zellkerne werden stark gefärbt und im allgemeinen alle Zellelemente. In der Beurteilung des Ergebnisses muß beachtet werden, daß das kromatische Bild stark vom pH-Wert der Spülwasser abhängt, auch vom Verdünnungstampon. Die Intensität der Färbung hängt auch von den Differentiationszeiten ab.

**FÄRBEDAUER:** 50 Min.

### ERFORDERLICHE REAGENZIEN:

- Lösung A: Giemsa Lösung
- Lösung B: Äthylalkohol 96% und Essigsäure 1%
- Alkohol 100%
- Buffer pH 6.88

AD + Essigsäure

### ZUBEREITUNG DER LÖSUNGEN:

- Lösung A (Giemsa Lösung): 45 ml Buffer pH 6.88 + 5 ml Giemsa
- Lösung B: 50 ml Äthylalkohol 96%ig + 3 Tropfen Essigsäure AD

### FÄRBEVORGANG:

\* 65 ml Buffer +  
5 ml Lösung

1. Schnitte entparaffinieren und in AD bringen.	
2. Den Objektträger in Giemsa Lösung (A) in den Ofen bei 60°C einstellen. *	40 Min. (30')
3. In AD spülen (bei vielen Objektträgern ist es besser, wenn diese im Buffer bleiben, bis zu ihrer Differenzierung).	
4. Kurz in 60%igen Alkohol, dann in 80%igen und in 96%igen Alkohol geben.	
5. Mit Lösung B differenzieren (Äthylalkohol + Essigsäure). AD + 5 Tropfen Essigsäure	
6. Entwässern mit Alkohol 100%. 60/80/96/100%.	
7. Xylol und in Balsam einschließen.	

### ERGEBNIS:

Chromatinverteilung im Zellkern, Darstellung der Nukleoli und Zytoplasmadarstellung.

# Anhang

PROVINCIA AUTONOMA DI BOLZANO - ALTO ADIGE  
AZIENDA SANITARIA DI BOLZANO

Servizio di Anatomia Patologica e Istologia



AUTONOME PROVINZ BOZEN - SÜDTIROL  
SANITÄTSBETRIEB BOZEN

Abteilung fuer Pathologische Anatomie u.  
Histologie

Procedura / Prozedur	PG 32
<b>Titolo / Titel:</b> ISTOCHIMICA Esecuzione di colorazioni speciali	Rev. 01 del 01/12/2003 Pagina 32 di 68

## **Grocott (Silbermethenamin)**

**ANWENDUNG:** Die Färbung dient zur Darstellung von Pilzen, Protozoen (Pneumocystis carinii) auch Bakterien in Sputumausstrichen oder BAL – Untersuchungen von HIV – bzw. AIDS – Patienten.

**FÄRBEDAUER:** 2 Stunde und 30 Min.

### **ERFORDERLICHE REAGENZIEN:**

- Chromsäure 5%
- Natriumbisulfit 1%
- Methenamin-Silber-Gebrauchslösung
- Goldchlorid 0.1%
- Natriumthiosulfat 2%
- HTX-Eosin

### **ZUBEREITUNG DER LÖSUNGEN:**

- Chromsäure 5% Lösung: 2.5 g Chromsäure ( $\text{CrO}_3$ ) in 50 ml AD lösen
- Natriumbisulfit 1%: 1 g Natriumbisulfit ( $\text{NaHSO}_3$ ) in 100 ml AD lösen
- Methenamin-Silber-Gebrauchslösung: 25 ml 3%iger Hexamethylentetramin (3 g in 100 ml AD) + 1 ml 10%ige Silbernitrat (10 g in 100 ml AD). Es bildet sich ein weißer Niederschlag, der mit Schütteln der Lösung sich auflöst. Kurz vor Gebrauch 25 ml 0.3%ige Dinatriumtetraborat dazugeben.
- Goldchlorid 0.1%: 0.1 g Goldchlorid ( $\text{AuCl}_4$ ) in 100 ml AD lösen
- Natriumthiosulfat 2%: 2 g Natriumthiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) in 100 ml AD lösen

# Anhang

PROVINCIA AUTONOMA DI BOLZANO - ALTO ADIGE  
AZIENDA SANITARIA DI BOLZANO



AUTONOME PROVINZ BOZEN - SÜDTIROL  
SANITÄTSBETRIEB BOZEN

Servizio di Anatomia Patologica e Istologia

Abteilung fuer Pathologische Anatomie u.  
Histologie

Procedura / Prozedur	PG 33
<b>Titolo / Titel: ISTOCHIMICA</b> Esecuzione di colorazioni speciali	Rev. 01 del 01/12/2003 Pagina 33 di 68

## FÄRBEVORGANG:

1. Schnitte entparaffinieren und in AD bringen.	
2. In anidride cromico 5% stellen.	60 Min.
3. Wässern.	2 Min.
4. In 1%ige Natriumbisulfit geben.	1 Min.
<b>Um Rückstände der Chromsäure zu entfernen:</b>	
5. Wässern.	5 Min.
6. Dreimal in AD spülen.	
7. Den Objektträger in Methenamin-Silber-Gebrauchslösung in den Ofen bei 57°C einstellen.	70 Min.
<b>Nach Inkubation sollten di Schnitte eine gelb – braune Farbe aufweisen.</b>	
8. 2-3 mal in AD spülen.	
9. In Goldchlorid 0.1% einstellen.	5 Min.
10. 2-3 mal in AD spülen. Entfernung unreduzierten Silbers in 3%igen Natriumthiosulfat.	7 Min.
11. 2-3 mal in AD spülen.	
12. Kontrastfärbung mit HTX-Eosin.	
13. Entwässern in 60%igen, 80%igen, 96%igen und 100%igen Alkohol.	
14. Xylol und in Balsam einschließen.	

## ERGEBNIS:

- Protozoen, Pilze, Bakterien → schwarz
- Schleim → rosa

## 12 Danksagung

Am Ende möchte ich mich noch bei folgenden Personen bedanken, welche mich bei der Diplomarbeit unterstützt haben:

a.o. Univ.-Prof.Dr. Nicola Maria Teschler für die Annahme meines Diplomarbeitthemas als interne Betreuerin.

PD.Dr. Albert Zink für das Anvertrauen des interessanten Themas und die kollegiale Aufnahme in das Eurac Team des Institutes für Mumien und den Eismann.

Dr. Frank Maixner für das Engagement, für die vielen „Mutspritzen“ und für den Glauben an eine endlich fertige Diplomarbeit.

Schroffenegger Franz und Röggl Renate für die professionelle Einführung in die Histologische Technik.

Meinen Freund Philipp für die sorgsame Unterstützung unserer Familie.

Meinen Eltern für die Unterstützung, den Glauben an mich und die liebevolle Betreuung meines Sohnes Toni.

Meraner Luise und Dieter mit Familie für die unendlich liebevolle Betreuung meines Sohnes.

Meiner Freundin Marion für die Betreuung von Toni und für die kurzen, aber dennoch entspannenden Kaffeekränzchen mit Susi und Evelyn.

Claudia für`s Zuhören und Mut machen.

## 13 Curriculum vitae

### Persönliche Daten

Name:	Grumer Astrid
Geburtstag/ort:	30.07.1977 in Bozen
Adresse:	St. Annaweg 23 39057 Eppan an der Weinstrasse Italien
Familienstand:	ledig, ein Sohn geb. 7.05.2010

<b>Schulbildung</b>	1983 -1989	Grundschule, Bozen
	1989 -1992	Mittelschule, Bozen
	1992 -1996	Oberschule: Lehrerbildungsanstalt, Meran
	2004 -2006	Oberschule: Lehranstalt für Soziales (Abendschule)
	3.07.2006	Abschluss: Matura

<b>Berufstätigkeit</b>	1996 - 2006	Zahnarztassistentin
------------------------	-------------	---------------------

<b>Studium</b>	WS 2006 - SS 2012	Biologie/Anthropologie (Erziehungsurlaub: WS 2010- incl. WS 2011)
----------------	-------------------	--

<b>Stipendien</b>	WS 2006 - WS 2010	Stipendium des Amtes für
-------------------	-------------------	--------------------------

## Curriculum vitae

Hochschulförderung, Universität und  
Forschung

2009 - 2010

Leistungsstipendium des Amtes für  
Hochschulförderung, Universität und  
Forschung