

## **Ein halbautomatisches Meßgerät zur Morphometrie von Muskelfasern im mikroskopischen Querschnittspräparat**

### **A Semi-automated Device for Measuring Muscle Fibers at the Microscopic Crossection Slide**

G. BEYERSDORFER, M. ÖHLERICH und J. WEGNER

Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock  
(Direktor: OVR Prof. Dr. sc. K. ROTHE)

(Eingegangen am 18. Oktober 1984)

Mit 2 Abbildungen

### **Zusammenfassung**

Es wird eine Methode zur halbautomatischen Datenermittlung bei mikroskopischen Untersuchungen vorgestellt. Für die quantitative Muskelfasermessung finden ein Mikroskop mit einem speziellen Meßaufsatz, der nach der Dysonschen Bildaufspaltung arbeitet, in Kombination mit einem Meßpotentiometer und einer Tastatur zur Muskelfasertypenzuordnung Anwendung. Die Speicherung und Verrechnung der Meßwerte erfolgt in einer speziell angepaßten Auswerteeinheit auf der Grundlage des Mikrorechners K 1520.

### **Summary**

A method for semi-automated data collection used in microscopic studies is presented. At the measuring of muscle fibers we used a microscope with a special measuring device, working on the principle of optical splitting, a potentiometer and a keyboard adapted to enter the muscle fiber types. The data storage and processing take place in a special unit on the basis of the microcomputer-system K 1520.

Der Wunsch, mikroskopische Objekte zu messen, ist fast ebenso alt wie die Erfindung des Mikroskops selbst. Neben solchen technischen Disziplinen wie Metallurgie und Werkstoffkunde haben besonders auch die biologischen und medizinischen Wissenschaften hier einen außerordentlich großen Bedarf, der erst in den letzten Jahrzehnten berücksichtigt wurde bzw. für spezielle Anwendungen nur im Eigenbau befriedigt werden kann.

Automatische Verfahren (BEYERSDORFER et al. 1977, SIMON et al. 1981) sind nicht nur sehr teuer, sondern in der Biologie auch nur bedingt sinnvoll einsetzbar. Oft ist es nicht möglich, die durch Fixierung und Präparation entstehenden Artefakte, die das gleichmäßige, mikroskopische Bild stören, zu verhindern. Für diese Anwendungsgebiete bleibt nur die halbautomatische Messung, bei der der Mensch Entscheidungen über Artefakte treffen kann. Für die biologische Grundlagenforschung innerhalb der Tierzuchtforschung ist es notwendig, zahlreiche Meßdaten pro Präparat und Tier mit annehmbarer Zeiteffektivität zu erheben, da die zu

vergleichenden Präparate von sehr ähnlichen Tieren stammen und ein vorhandener Unterschied nur so zu sichern ist.

Ein halbautomatisches Gerät, das den genannten Anforderungen entspricht, wurde im Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock entwickelt und gebaut. Der Meßaufsatz zur DYSON'schen Bildaufspaltung wurde von TIMBRELL (1962) beschrieben und als Versuchsmuster im VEB Carl Zeiss Jena wenig später gebaut. Die Zeichnungen dazu wurden uns freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

### Meßprinzip

Mit dem vorzustellenden Gerät wird der sogenannte Krumbein'sche Durchmesser, ein statistisches Korngrößenmaß gemessen. Er ist die längste Sehne durch das Objekt (Korn) parallel zu einer gegebenen Richtung.

Er liefert ähnliche Werte wie der Durchmesser des flächengleichen Kreises und ist ein relativ eindeutiges Korngrößenmaß (GRÖBLER 1973). Ist das Objekt nicht annähernd rund, wirkt sich die Orientierung auf das Meßergebnis aus. Zusammgedrückte oder nicht exakt orthograde Querschnittspräparate z. B. von Muskelfasern dürfen nicht gemessen werden. Die Richtung der Messung kann für spezielle Aufgaben durch Drehung am Kreuztisch des Mikroskops verändert werden. Das bedeutet jedoch einen Verzicht auf eine schnelle Ermittlung der Meßergebnisse.

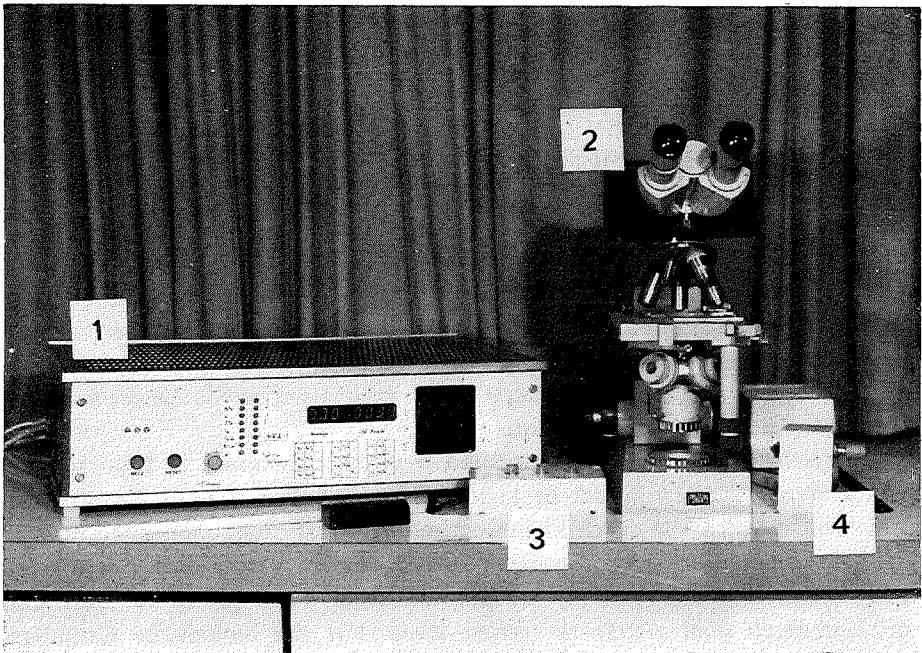


Abb. 1. Halbautomatischer Muskelfaseranalysator MFA 1 (1 Auswerteeinheit, 2 Meßaufsatz, 3 Auslösetastatur, 4 Meßpotentiometer)

## Aufbau und Meßvorgang

Das Gerätesystem besteht aus vier funktionellen Baugruppen, die entsprechend den Anforderungen des Nutzers angeordnet werden können (Abb. 1 und 2). Die Auswerteeinheit bildet ein Mikrorechner K 1520. Als Zentraleinheit wird die Baugruppe K 2521 verwendet. Sie enthält den Mikroprozessor U 880 sowie 3 K Byte Programmspeicher und 1 K Byte Datenspeicher. Über die Digital-Ein/Ausgabe fragt der Rechner die Auslösetastatur ab. Der Schwingspiegeladapter stellt die Stromversorgung für den Blendenmotor bereit und liefert eine durch das Meßpotentiometer in ihrer Amplitude veränderliche Wechselspannung für den Schwingspiegel.

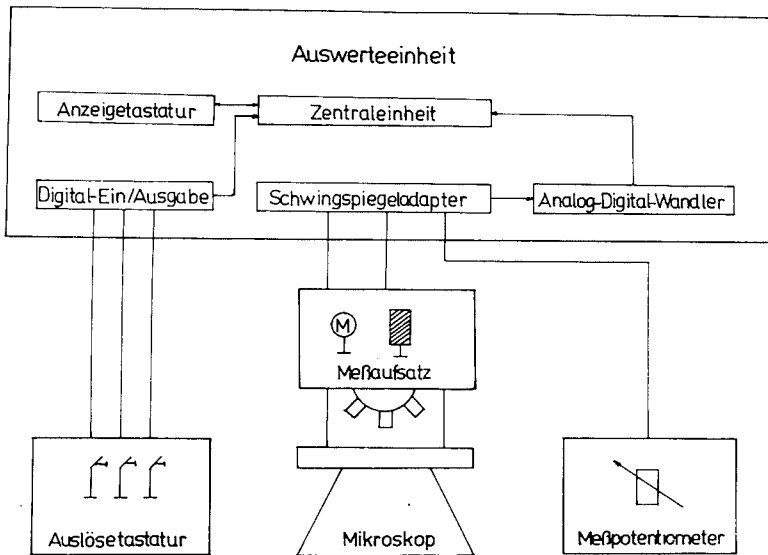


Abb. 2. Blockschaltbild

Mit dem Meßaufsatz auf dem Mikroskop wird die Bildaufspaltung zur Messung des Krumbein'schen Durchmessers realisiert. Er enthält den Blendenmotor, die von ihm angetriebene rotierende Blendscheibe sowie den Schwingspiegel. Das mikroskopische Bild wird durch den Schwingspiegel jeweils beim Erreichen der Maximalwerte der Wechselspannung durch die beiden Aussparungen in der Blendscheibe in den Strahlengang des Mikroskops eingeblendet.

Sowohl der die Blendscheibe antreibende Motor als auch der Schwingspiegel sind durch die Netzfrequenz synchronisiert. Die durch das Meßpotentiometer vorgegebene Spiegelspannung wird gleichgerichtet und über einen Analog-Digital-Wandler in den Rechner eingegeben.

Der Meßvorgang beginnt mit der Eichung des Gerätes. Mit Hilfe eines Vorschaltwiderstandes und eines Objektmikrometers wird das Gerät so eingestellt, daß die Werte in  $\mu\text{m}$  angezeigt werden. Die zu messenden Objekte werden nacheinander einzeln ins Auge gefaßt. Durch Drehung am Meßpotentiometer wird das

Bild des Objektes soweit aufgespalten, daß sich die beiden Bilder an ihren einander gegenüberliegenden Rändern gerade noch berühren.

Die bei der Bildaufspaltung zurückgelegte Strecke entspricht dem Durchmesser des Objektes. Die dazu notwendige Spannung wird nach Betätigen der Auslösetastatur im Rechner gemessen. Der Meßwert in  $\mu\text{m}$  und die laufende Nummer der Messung werden zur Kontrolle aufgezeigt. Entsprechend der durch die Auslösetastatur vorgegebenen Art des Objektes (z. B. Muskelfasertypen) wird der Meßwert und sein Quadrat aufsummiert und die Meßwertanzahl hochgezählt. Nach Ablauf der Gesamtmessung (z. B. 500–1000 Muskelfasern pro Präparat) werden daraus folgende Werte nach Knopfdruck berechnet und angezeigt:

$N$	Anzahl der gemessenen Objekte
$N/\text{mm}^2$	Anzahl Objekte pro Flächeneinheit des Präparats (Objektdichte)
$\bar{x}$	mittlerer Durchmesser der Objekte
$s$	Standardabweichung
$s\%$	Variationskoeffizient
$N\%$	Anzahl Objekte einer Art (z. B. rote Muskelfasern) in Prozent der Gesamtanzahl gezählter Objekte (rote, weiße, intermediäre Muskelfasern)
$A\%$	Fläche der Objekte einer Art in Prozent von der gesamten untersuchten Fläche des Präparats

Entsprechend der wissenschaftlichen Aufgabenstellung und des zu untersuchenden Objektes können auch andere Parameter berechnet werden. Die vorgestellte Rechnervariante stellt die erste Ausbaustufe dar.

Prinzipiell ist es möglich, mit einem stärker ausgebauten Rechner K 1520 die Daten zu speichern und weitergehende Berechnungen, wie sie von HERRMANN et al. (1983) für die Differentialdiagnose von Muskelerkrankungen vorgeschlagen werden, durchzuführen. Dabei ist die Verwendung einer höheren Programmiersprache z. B. BASIC möglich.

### Vor- und Nachteile

Die Vorteile des beschriebenen Gerätes liegen darin, daß das mikroskopische Bild direkt ausgewertet wird. Es ist also keine Fotografie oder Demonstrationseinrichtung erforderlich. Von Nachteil ist demgegenüber, daß die verfügbare Lichtintensität nur etwa bis zu einer 400fachen Vergrößerung ein bequemes Arbeiten gestattet. Kleinere Objekte wie Zellkerne, Spermaköpfe u. a. können nur bedingt gemessen werden. Fettkügelchen der Milch mit einem Durchmesser von  $1,3 \mu\text{m}$  wurden jedoch erfolgreich im Phasenkontrast bei 1000facher Vergrößerung gemessen. Bezüglich der Genauigkeit der Einzelmessungen wird von GRÖBLER (1973) eingeschätzt, daß man mit Meßokularen, die nach dem Bildaufspaltungsprinzip arbeiten, eine höhere Einstellgenauigkeit erreicht als mit den üblichen Okularmeßmethoden. Die Berechnung des Intraklasskorrelationskoeffizienten als ein Maß für die größere Ähnlichkeit der Elemente einer Gruppe (4 Wiederholungs-

messungen je 500 Objekte) gegenüber der Ähnlichkeit der Elemente aus verschiedenen Gruppen (Präparate von 20 verschiedenen, jedoch gleichaltrigen Tieren) ergab bei Messungen von Muskelfasern ein  $\vartheta$  von 0,98. Aus der zweijährigen Arbeitserfahrung mit dem Gerät muß besonders die hohe Einstellsicherheit bei hoher Arbeitsgeschwindigkeit hervorgehoben werden. So können in einer Stunde pro Meßperson ca. 1200 Einzelobjekte gemessen und verrechnet werden. Das entspricht einer Erhöhung der Arbeitsproduktivität gegenüber dem herkömmlichen Meßschraubenokularmikrometer um das Sechsfache. Diese hohe Zeiteffektivität mikroskopischer Messungen eröffnet Möglichkeiten für die biologische und medizinische Forschung, die bislang wegen des enormen Zeitaufwandes kaum genutzt werden konnten.

### Literatur

- BEYERSDORFER, G., und U. GERNAND: Linearanalyse histologischer Präparate mit dem automatischen Gefügeanalysator EPIQUANT am Beispiel von Muskelfaseruntersuchungen. Jena. Rdsch. **22** (1977) 293–296.
- GRÖBLER, B.: Messen und Zählen mit dem Mikroskop. In: BEYER, H.: Handbuch der Mikroskopie. Berlin: Verlag Technik 1973.
- HERRMANN, V., H. FINK und E. KRACHT: Ein halbautomatischer Meßplatz für die Muskelfaserhistometrie. Wiss. Z. Friedrich-Schiller-Univ. Jena, Math.-Naturwiss. R. **32** (1983) 659–663.
- SIMON, H., D. KRANZ und K. VOSS: Zur Methode einer automatischen Mikroskopbildanalyse an histologischen Schnitten. Zbl. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **125** (1981) 399–405.
- TIMBRELL, V.: A method of measuring and grading microscopic spherical particles. Nature **170** (1962) 318–319.

Anschrift der Autoren:

Dr. Ing. G. BEYERSDORFER, Dr. agr. J. WEGNER, Dipl.-Ing. M. OHLERICH, Forschungszentrum für Tierproduktion Dummerstorf-Rostock, DDR-2551 Dummerstorf