

Enthemmungsphänomen: Sobald man meint, schon zu viel gegessen zu haben, wirft man alle guten Vorsätze über Bord und nimmt sogar noch mehr zu sich als ungezügelt Esser. Deshalb wird heute eine flexible Kontrolle empfohlen, die durchaus auch attraktive, gewichtssteigernde Nahrung in Maßen zuläßt. Die kognitive Kontrolle darf nicht überschätzt werden. Selbst in Diätbüchern werden unbewußt niedrigere Verzehrsmengen aufgeschrieben als tatsächlich konsumiert wurden, so daß neue Programme gefragt sind, die zu einer habituellen Kontrolle führen können. Noch gehen alle Maßnahmen vom Kopf aus, wichtig ist, daß die Eßkontrolle adipöser Patienten schließlich „aus dem Bauch kommt“. So haben alle Maßnahmen häufig nur einen kurzzeitigen Effekt, der an bestimmte Ausnahmesituationen (Ferien, Kuraufenthalte) gebunden ist.

Für die Beherrschung einer adipösen Veranlagung kommt dem Sport größte Bedeutung zu. Wird er mit Gleichgesinnten und -betroffenen ausgeübt, dann entfallen nicht nur die Hemmungen, es ergibt sich zusätzlich eine hohe Motivation. Langzeiteffekte können aber nur in Kombination mit einer Diät erzielt werden. Die sportliche Betätigung muß mindestens täglich eine halbe Stunde ausgeübt werden, damit der Körper vom Kohlenhydrat- auf den Fettabbau übergeht. Optimal ist täglicher Sport, das Mindeste zweimal pro Woche. Geeignete Sportarten sind Schwimmen, Radfahren, Tanzen, Reiten

und Skilanglauf, nicht aber Joggen, Fußball oder Squash. Zunehmend wird auch Kraftausdauertraining propagiert.

Nach Vorträgen der 10. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Adipositasforschung in Göttingen, 6. bis 8. Oktober 1994. — F. A. Gries (Düsseldorf): Das Körpergewicht des Menschen, biologische Variationen, medizinische Implikationen, soziale Normen. — R. Noack (Potsdam): Biologische Grundlagen der Regulation von Energieaufnahme und Energieabgabe beim Menschen. — J. Westenhöfer (Göttingen): Die Risiken des gezielten Eßverhaltens und die Chancen adäquater Verhaltenskontrolle. — J. Hebebrand (Marburg): Welchen Spielraum läßt die genetische Disposition der Gewichtsreduktion? Adipositas als Familienschicksal? — J. G. Wechsler (München): Was ist die beste Reduktionsdiät? Das diätische Management von Formula-Diäten bis Light-Produkte. — V. Pudel (Göttingen): Beginnt Abnehmen im Kopf? Die Bedeutung kognitiver Prozesse für Gewichtsveränderungen. — V. Schusdzjarra (München): Medikamente als Problemlösung? Welche Wirkstoffe können helfen? Indikationen, Restriktionen, Kurz- und Langzeitergebnisse. — A. Wirth (Rothenfelde): Gewichtsstabilität durch Sport? Welcher Stellenwert kommt dem Bewegungsumsatz für die Gewichtsregulation bei? — Vorträge der Preisträger der Adipositas-Forschungspreise 1993, PD Dr. R. R. Schick (München), und 1994, Frau Dr. Wenzel (Ulm).

#### Literatur

Aktuelle Ernährungsmedizin, Klinik und Praxis, 19, 259 und 272 (1994). — A. W. Logue: Die Psychologie des Essens und Trinkens. Hrsg. und mit einem Vorwort versehen von Volker Pudel. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 1995.

NR

## Konfokale Mikroskopie

### Der Weg in die dritte Dimension

#### Bericht

Erst dreißig Jahre nach der Entdeckung erfährt das Prinzip der konfokalen Mikroskopie breitere praktische Anwendung. Nutzer dieser Mikroskopietechnik sind vor allem Biowissenschaftler, Mediziner und Werkstoffforscher, insbesondere in der Halbleitertechnik. In der physikalischen Grundlagenforschung hat sie bisher weniger Eingang gefunden. Im Folgenden wird das methodische Prinzip der konfokalen Mikroskopie beschrieben und die damit verbundenen Vorteile und Einsatzmöglichkeiten aufgezeigt. Ein wesentliches Anliegen besteht auch darin, Anregungen für den weiteren, gezielten Einsatz dieser Methode zu geben, denn das potentielle Anwendungsspektrum scheint bei weitem noch nicht ausgeschöpft zu sein.

Mit dem Wort Mikroskopie verbinden wir immer die vergrößernde Abbildung der uns umgebenden Natur, deren Objekte klein oder mit dem bloßen Auge nicht mehr erkennbar sind. Je nachdem, welche Lichtquelle das Mikroskop verwendet, erhält man Abbildungen von relativ geringer Vergrößerung wie beim einfachen Lichtmikro-

skop oder dringt in die Dimensionen der Mikrowelt ein. Mit dem Licht eines Elektronenstrahls verwirklicht das Elektronenmikroskop den Traum vieler Forschungsgenerationen, die atomaren und molekularen Strukturen, die Grundbausteine der Materie, zu erkennen und für alle im Bild sichtbar zu machen.

Allen bisher bekannten Mikroskopiermethoden ist gemeinsam, daß die Untersuchungsobjekte nur punkt-, linien- oder flächenweise abgebildet werden können, die Strukturen also höchstens zweidimensional darstellbar sind, denn selbst beim Rasterelektronenmikroskop ist letztendlich die Tiefenschärfe begrenzt.

Mit der konfokalen Mikroskopie ist es den Entwicklern erstmalig gelungen, die Dreidimensionalität eines Objektes auf die Abbildung zu übertragen.

Das Prinzip, auf das dieses Mikroskopieverfahren basiert, wurde bereits 1955 von M. Minsky, einem Wegbereiter der künstlichen Intelligenz, entdeckt und speziell für die lichtmikroskopische Untersuchung von Gehirnzellen eingesetzt. Aber erst mit der Entwicklung des

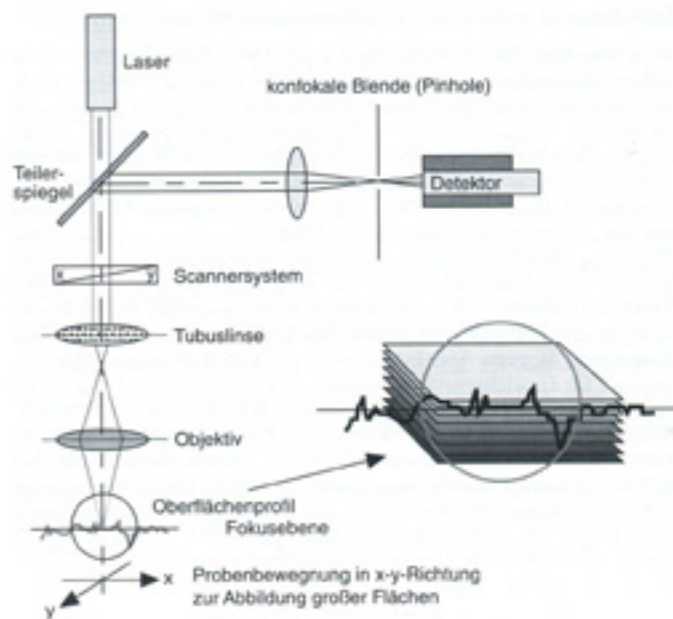


Abb. 1. Prinzip des konfokalen Laserscan-Mikroskops.

Lasers und dem heutigen Stand der Technik, die eine hochpräzise, elektromechanische Scannertechnik und eine geeignete Datenverarbeitung ermöglichen, waren die Bedingungen zu einer generellen Anwendung dieser Methode gegeben. Bei Carl Zeiss in Oberkochen entstand 1985 nach gezielter Entwicklungsarbeit das erste kom-

merzielle Laserscan-Mikroskop unter Verwendung von Laserlicht.

Das grundsätzliche Prinzip der konfokalen Mikroskopie beruht darauf, daß nur das im Fokus der Linse reflektierte Licht zur Abbildung genutzt wird. Alle diffusen, das heißt unter einem Winkel zum einfallenden Strahl reflektierten Lichtanteile werden durch eine extrem feine Lochblende (Pinhole) herausgefiltert. Man erhält dadurch ein scharfes, zweidimensionales Bild von allen Punkten, die sich gerade auf gleicher „Höhe“ mit dem Brennpunkt der Linse befinden, ähnlich der „Höhenlinie“ geographischer Landkarten. Das reflektierte Licht wird von einem Detektor registriert, gespeichert und mittels Datenverarbeitung zur Bildherstellung genutzt (Abb. 1).

Das weitere Vorgehen basiert auf dem systematischen Scannen der Probe mit dem stark fokussierten Laserstrahl bei schrittweiser geringfügig veränderter Lage des Brennpunktes, also der Lage der Fokusebene. Man erhält einen ganzen Satz an Abbildungs-„Höhenlinien“, die sich entsprechend der digitalen Bildbearbeitung zu einem dreidimensionalen scharfen Bild zusammensetzen lassen. Der digitalen Rekonstruktion der Abbildung sind, unter Voraussetzung einer geeigneten Software, praktisch keine Grenzen gesetzt, da die Tiefenschärfe virtuell unendlich ist.

Nach dem heutigen Stand der Datenverarbeitung bieten sich mehrere, unterschiedliche Methoden zur Bildbearbeitung, -verbesserung und -analyse an. So ist beispielsweise die Darstellung beliebiger Schnittebenen, auch unter allen denkbaren Winkeln, oder die beliebige farb-codierte Höhendarstellung möglich, es lassen sich sogar

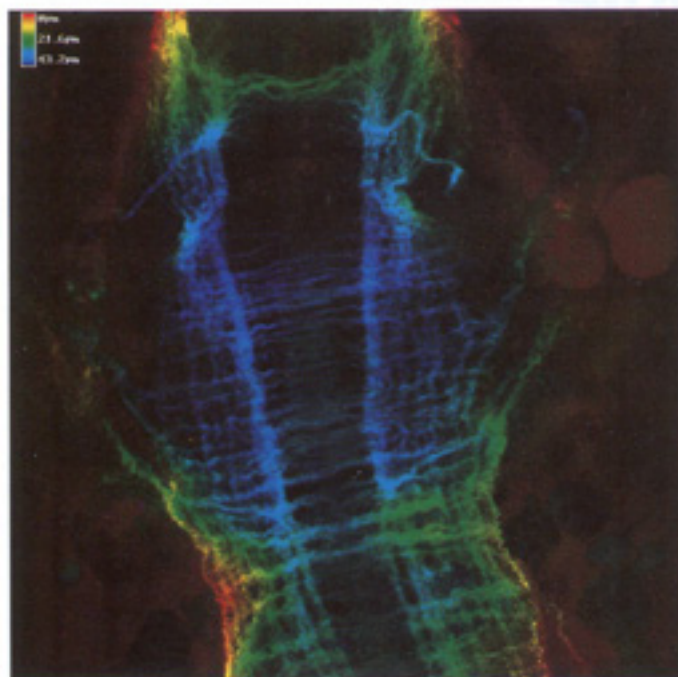


Abb. 2. Farbcodierte Höhendarstellung. Aufgenommen wurde ein Stapel optischer Schnitte in einem Embryo vom Zebrafisch (das Präparat wurde aus der Gruppe Prof. C. Stürmer in Konstanz zur Verfügung gestellt). Gefärbt wurde alpha Tubulin im sich entwickelnden Zentralnervensystem. Als Indikator kam Rhodamin zur Verwendung. Angeregt wurde die Fluoreszenz mit 543 nm aus einem HeNe-Laser. Das verwendete Objektiv war ein C-Apochromat 40x/1,2 W Korr, ein spezielles Objektiv für höchste Leistungen in Präparaten, die in wässrigem Medium sind.

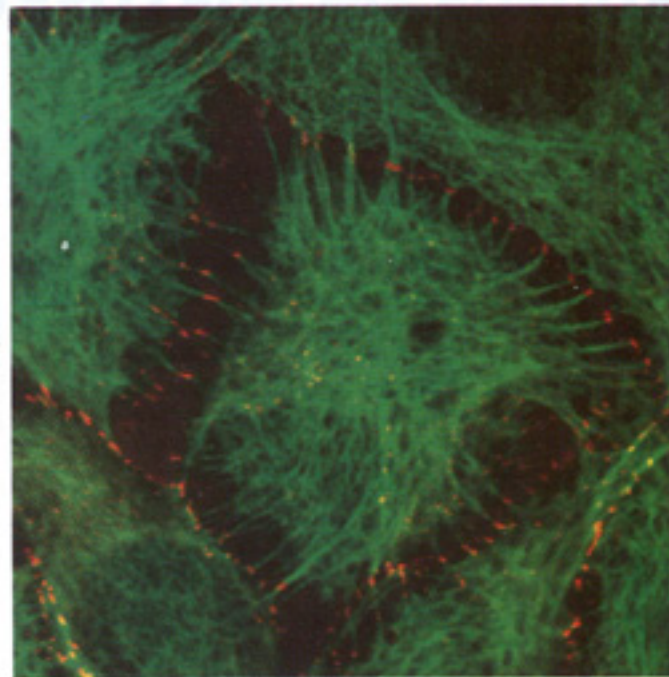


Abb. 3. Zweifach-Immunohistochemische Färbung in kultivierten Zellen. Präparat aus der Gruppe Dr. Kartenbeck, Heidelberg. Grün ist das Protein Cytookeratin zu sehen, die roten Punkte zeigen Desmoplacin. Simultane Aufnahme mit 2 Laserlinien (488 nm und 543 nm). Objektiv Plan-Apochromat 63/1,4 oil.

ganze Filme durch Aneinanderreihung von Einzelbildern zur Objektdarstellung, ähnlich einem Trickfilm und besonders anschaulich für den biologisch-medizinischen Bereich, inszenieren (Abb. 2).

Aber auch dieses Mikroskop hat seine Einsatzgrenze. Die Nutzungsmöglichkeit ist in erster Linie durch das Auflösungsvermögen infolge der Wellenlänge des Laserlichtes beschränkt. Vergrößerungen bis zu 6000 $\times$  sind immerhin noch bei ausreichender Schärfe erzielbar. Dennoch verfügt die konfokale Mikroskopie über gravierende Vorteile, die sie in bestimmten Anwendungsbereichen, zum Beispiel bei der Untersuchung von dicken Fluoreszenzpräparaten und reflektierenden Oberflächenstrukturen, praktisch konkurrenzlos erscheinen läßt.

Ein unbestreitbarer Vorteil des konfokalen Mikroskops ist, daß im Gegensatz zum Elektronenmikroskop, vor allem gegenüber dem nach ähnlichem Prinzip der Oberflächenraasterung arbeitenden Rasterelektronenmikroskop (REM), kein Vakuum nötig ist, sondern in natürlicher Umgebung, also an Luft gearbeitet werden kann.

Ebenso vorteilhaft und nutzerfreundlich ist der Wegfall umfangreicher, oftmals sehr zeitraubender und lästiger, vorbereitender Präparationsmethoden des Untersuchungsobjektes. Die zu untersuchenden Proben bleiben praktisch im ursprünglichen Zustand erhalten, so daß wiederholende Untersuchungen möglich sind. Dies ist ein Umstand, der vor allem bei biologischem Probenmaterial ansonsten große Schwierigkeiten bereitet. Bisher mußte man die Proben, um mikroskopische Beobachtungen durchführen zu können, mit einem Mikrotom in dünne Schichten zerschneiden. Dieser mechanische Schritt ist in der Regel mit einer Beeinflussung beziehungsweise Störung des ursprünglichen Probenzustandes verbunden.

Aufgrund der genannten Vorteile wird die konfokale Mikroskopie bevorzugt in den Bereichen der Biologie, Biomedizin und Medizin eingesetzt. Hier gelingt sogar die zeitliche Verfolgung von Lebensprozessen am „lebenden“ Probenmaterial. Als Beispiele sind die dreidimensionale Abbildung und Untersuchung der Funktionalität von Zellen, Geweben sowie ganzen Organen und der Ablauf biochemischer Vorgänge genannt. Vor allem bietet die Fluoreszenzmikroskopie unter Verwendung von Kontrastmitteln ein weites Untersuchungsfeld. So können Bausteine wie Proteine, Lipide und andere in der Zelle sichtbar gemacht und ihr Verhalten zeitlich verfolgt wer-

den. Dadurch sind Informationen über Zellchemie und Zellfunktionen zu erhalten (Abb. 3).

Zunehmend interessant wird die konfokale Mikroskopie auch für die Materialforschung. Beispielsweise ist es für die Untersuchung von Rauigkeitsprofilen an Oberflächen ein großer Vorteil, berührungs- und zerstörungsfrei prüfen zu können. Dabei stört der verhältnismäßig geringe Abbildungsmaßstab nicht, da die abzubildenden Oberflächendimensionen (Rauigkeitschwankungen von Festkörpern, Metallen, Schichten usw.) in der Größenordnung der erreichbaren Auflösung liegen. Ein weiteres Beispiel für eine materialwissenschaftliche Nutzung ist die Abbildung von mikromechanischen Bauteilen und Mikrochipstrukturen. Hier bietet sich eine ganze Palette noch nicht ausgeschöpfter Möglichkeiten an, zum Beispiel bei der Produktions- und Qualitätsüberwachung dieser Mikroobjekte.

Aufgrund dessen, daß die Abbildungsdaten digital vorliegen, sind prinzipiell alle bekannten Bildbearbeitungs- und Bildverbesserungsverfahren zur Auswertung der erhaltenen Informationen nutzbar. Außer für topographische Messungen können die digital gewonnenen Werte auch analytisch aufbereitet werden. So sind mit Hilfe von Grauwertstufen, mit denen Histogramm Daten berechnet werden können, Dichtemessungen möglich.

Wir dürfen gespannt sein, wie die Entwicklung auf dem Gebiet der konfokalen Mikroskopie weitergeht. Ganz gewiß wird sie in den Bereichen Biologie und Medizin, aber auch in der Mikrotechnik und der Halbleitertechnik, insbesondere der Chipherstellung breite Anwendung finden. Fortschritte in der Datenauswertung werden die konfokale Mikroskopie als ergänzendes Instrument weiter für die Materialforschung (Oberflächen) und die Physiologie (Kinetik) erschließen. Mit der Weiterentwicklung der digitalen Bildverarbeitung wird sich auch der derzeit relativ hohe Zeitaufwand zur Bildauswertung der 3D-Datensätze reduzieren. Mit immer kürzer werdenden Bildaufbauzeiten lassen sich letztlich auch bewegte Mikroobjekte dreidimensional darstellen. Des Weiteren werden sicherlich zusätzliche Informationen zu spektralen und zeitlich dynamischen Charakteristiken für eine gesamtheitliche Untersuchungsauswertung an Bedeutung gewinnen. [T. Hellmuth, *Phys. Bl.* **6**, 489 (1993). – J. W. Lichtmann, *Scientific American* **271**, Nr. 2, S. 30 (1994). – R. Borlinghaus, *Zeiss Inform./Jenaer Rundschau* **5**, 10 (1995).]

Dr. Christine Ritschel, Karlsruhe