

Proporremmo pertanto il seguente metodo di conservazione: poichè è inutile ricorrere all'Inosina per il sangue di primo impiego, mentre a questa sostanza si può ricorrere quando il sangue non è utilizzato nei primi dieci giorni, ci si potrebbe orientare, come routine, sull'aggiunta di Inosina nella quantità massima ottimale (sol. al 2,5 per mille) in dodicesima giornata dal prelievo, sicuri di poter contare su tale sangue ancora per un periodo di 20-30 giorni.

### Summary

The action of inosine in preserving blood for transfusional purposes has been studied. Experiments have been performed in order to determine:

1. the optimal dose of inosine capable of preserving red cells for a period of 40-50 days;
2. if inosine treatment is more efficacious using a single dose or several doses;
3. the rapidity of the red cells' utilization of inosine;
4. the action of inosine on red cells preserved for 10 days and centrifuged at 2000 r.p.m.

32

## Die morphologischen Elemente des konservierten Blutes Neue mikroskopische Untersuchungen mit dem (plastischen) 3D-Kondensator

L. ZSELYONKA

Budapest, Hungary

Schon seit langem trachten Fachleute der Mikroskopie das Auflösungsvermögen des Mikroskops zu erhöhen und kontrastreiche sowie formtreue Bilder zu erzielen.

Im mikroskopischen Bild erscheinen im normalen Licht zwei benachbarte Teile nur dann als zwei, d. h. ergeben die beiden Objektpunkte nur dann zwei Bildpunkte, wenn die zwischen ihnen bestehende Entfernung zumindest die Hälfte der Wellenlänge der verwendeten Lichtstrahlen beträgt. Die untere Grenze der Wellenlänge des mit dem menschlichen Auge auffaßbaren Lichtes beträgt  $400\text{ m}\mu$ , woraus sich ergibt, daß die Entfernung der durch das Lichtmikroskop noch trennbaren Bildpunkte voneinander nicht weniger als  $200\text{ m}\mu$  betragen darf – d. h. daß größte Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops beträgt allerhöchstens  $0,2\text{ }\mu$ .

Die weitere Vervollkommnung des mikroskopischen Linsensystems läßt sich theoretisch kaum mehr vorstellen. Die weitere Entwicklung der Beleuchtung ist der einzige Weg, der zur Erhöhung des Auflösungsvermögens führt. Schon viele haben sich bisher mit der Vervollkommnung der Beleuchtung befaßt. Auf diesem Gebiet hat der holländische Physiker *Zernicke* mit der Ausarbeitung seines Phasenkontrastverfahrens bisher das größte Resultat erzielt.

### Beschreibung des 3D-Kondensators

*I. Allgemeines.* Der 3D-Kondensator bringt eine kombinierte Beleuchtung zustande. Neu ist, daß er ein recht kontrastreiches, plastisches, verzerrungsfreies Gesichtsfeld ergibt. Ein großer

Vorteil ist, daß er auch das Auflösungsvermögen erhöht. Ein einfaches Auswechseln der Frontlinse bringt die verschiedenen Beleuchtungssysteme des Kondensors zustande. So vereint er die Vorteile einer kombinierten Beleuchtung mit denen eines universalen Kondensors. Der mit kombinierter Beleuchtung arbeitende 3D-Kondensor eliminiert die Fehler der einseitigen schrägen und zirkulären schrägen Beleuchtung dadurch, daß 1. die von einer Seite kommenden intensiven Beleuchtungsstrahlen, 2. die Dunkelfeldstrahlen, 3. die diffusen Strahlen geringerer Intensität und die Strahlen kürzerer Wellenlänge simultan wirken und 4. die zentralen Beleuchtungsstrahlen ausgeschlossen sind.

Dies ist der erste Kondensor, der bei der Beurteilung der räumlichen Ausbreitung und der Oberflächenstruktur der untersuchten Objekte eine objektive Grundlage bietet. Ferner ermöglicht die starke Kontrastwirkung, daß das Auflösungsvermögen des verwendeten Mikroskops vollständig zur Geltung kommt, was bei der Untersuchung einzelner Strukturen besondere Vorzüge hat.

*II. Technische Beschreibung.* Das Wesentliche der bei dem 3D-(dreidimensionalen)Kondensor benützten neuen Beleuchtungsmethode wird durch folgende Abbildung illustriert (Abb.1).

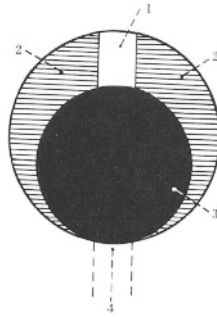


Abb. 1. Schematische Darstellung der Strahlenfelder im 3D-Kondensor. Erklärungen siehe im Text.

In Feld Nr.1 wird das Objekt von einseitigen schrägen Strahlen großer Intensität beleuchtet.

Durch Feld Nr.2 können nur durch eine dünne Metallschicht filtrierte und auf eine Intensität von 20% reduzierte Strahlen dringen. Dies sind teilweise diffuse Strahlen, deren Intensität sich sichelförmig vermindert. Diese Strahlen unterscheiden sich ferner auch in der Wellenlänge (Farbe) von den bei Feld 1 erwähnten Strahlen.

Auf dem Gebiet des 3. Feldes sind die zentralen Beleuchtungsstrahlen vollkommen ausgeschaltet. Die Ausschaltung ist von solchem Ausmaß, daß auch die gegen das Zentrum gerichteten abgelenkten und diffusen Strahlen eliminiert werden.

Die mit Nr.4 bezeichneten sind Dunkelfeldstrahlen.

Die Linsen des 3D-Kondensors bilden ein aplanatisches System, deren Apertur 1,2 beträgt. Der Kondensor hat drei auswechselbare Frontlinsen, mit deren Hilfe die verschiedenen Beleuchtungssysteme (Abbésche, Dunkelfeld, plastische) produziert werden können. Der größte äußere Durchmesser der Kondensorfassung beträgt 39,5 mm, entspricht also der internationalen Norm\*.

\* Eine ausführlichere Beschreibung des Kondensors bringt die von der sowjetischen ärztlichen Akademie publizierte Mitteilung: Zselyonka, L.; Kiss, F. und Barabas, J.: Der plastische (3D-)Kondensor. Bülleten Eksperimentalnoj Biologij i Medicinii 9: 123-126 (1958). Medgiz, Moskau.

*Die morphologischen Elemente des konservierten Blutes  
mit dem 3D-Kondensator untersucht*

Unser Zweck war, das konservierte Blut auch mit unserem Kondensator zu untersuchen. Wir studierten: 1. die Bewegung der morphologischen Elemente, 2. ihre Morphologie, 3. die Oberfläche der morphologischen Elemente (als neues Gebiet) und verglichen 4. die Bilder der verschiedenen Beleuchtungssysteme miteinander.

1. *Die Bewegung der morphologischen Elemente des konservierten Blutes.* Zu unseren Untersuchungen verwendeten wir immer feuchte Kammerpräparate. Diese wurden folgendermaßen hergestellt: Das konservierte Blut wird vorher bis zur Erreichung der Körpertemperatur in einem Thermostat von 37° C aufgewärmt. Sodann werden hiervon ein, zwei Ösen mit einem kleinen Tropfen steriler physiologischer Kochsalzlösung auf dem Objektträger verdünnt. Die so gewonnene Mischung wird mit einem Deckglas bedeckt und mit Paraffin umschlossen. Wir untersuchten die morphologischen Elemente von 1tägigem, 10 und 20 Tage altem konserviertem Blut. Unsere (feuchten Kammer-)Präparate wurden bei Zimmertemperatur untersucht. Mit obiger Untersuchungsmethode konnten wir feststellen, daß sich die morphologischen Elemente des Blutes nicht gleichartig bewegen. Die intensivste Bewegung zeigen die roten Blutkörperchen.

a) *Die Bewegung der roten Blutkörperchen.* Die Bewegung der roten Blutkörperchen läßt sich in zwei Gruppen teilen. Anders bewegen sich die roten Blutkörperchen, deren Oberfläche glatt und deren Plasma homogen ist, und anders jene, deren Oberfläche uneben ist und in deren Plasma sich kleine Corpuscula, Biogranula hervorheben.

Am auffallendsten ist, daß sich die roten Blutkörperchen mit glatter Oberfläche fast gar nicht bewegen. Die Bewegung der roten Blutkörperchen mit unebener Oberfläche ist hingegen viel intensiver. Sie verändern auch in Richtung des Uhrzeigers und in damit entgegengesetzter Richtung ihren Platz und vollführen dies abwechselnd. Ihre Bewegung gleicht denen eines Kraftwagenführers beim Lenkrad, und wir haben deshalb diese Bewegung als «volant-artig» bezeichnet.

In den volant-artige Bewegungen ausführenden roten Blutkörperchen sind die aus ihnen auch heraustretenden Biogranula immer ersichtlich. Bei den sich kaum bewegenden roten Blutkörperchen sind Biogranula niemals zu beobachten, woraus sich darauf schließen läßt, daß die Bewegung der roten Blutkörperchen *in entscheidender Weise davon abhängt, ob sie Biogranula enthalten oder nicht.* Diese Beobachtung wird auch von der Tatsache unterstützt, daß im frischen Blut auch die intrazelluläre Bewegung der Biogranula in den roten Blutkörperchen zu beobachten ist, die von recht intensiver Art ist. Als Motoren der volant-artigen Bewegungen sind unserer Meinung nach die spezifischen, biologischen intrazellulären Granula der roten Blutkörperchen anzusehen. Mit unserem Kondensator haben wir nämlich die individuelle lebhaftige Bewegung der intrazellulären Granula in den roten Blutkörperchen beobachtet.

b) *Die Bewegung der weißen Blutkörperchen.* Im frischen Blut ist die charakteristische kriechende, sich ausbreitende, sodann Kontraktionen aufweisende Bewegung der weißen Blutkörperchen gut zu sehen. Es lassen sich auch zeitweise Pseudopodien und die phagozytierende Tätigkeit der Leukozyten gut beobachten. In konserviertem Blut konnte – mit der von uns angewendeten Methode – dies nicht

beobachtet werden. Die Leukozyten zeigen entweder eine vollkommen glatte Oberfläche, oder – in der Mehrzahl – gleichen sie einem «Grießknödel» mit körniger Oberfläche. Es gibt im konservierten Blut auch solche weiße Blutkörperchen, die sich pfannkuchenartig ausbreiten und deren Plasma stark granuliert ist. In letzteren ist der Kern nie ersichtlich. In diesem Fall läßt sich die Kontur der weißen Blutkörperchen noch erkennen. Schließlich gibt es noch vollkommen verplattete Leukozyten, in denen die Zellgrenze zerrissen ist. Ihre Granula liegen frei um die Mutterzelle.

c) *Die Bewegung der Blutplättchen.* Die Blutplättchen sind nicht plattenförmig, sondern zeigen das Bild von Plasmaschollen. Sie sind in Gruppen zu sehen, und wir haben deren Bewegung im konservierten Blut nie beobachtet. Recht selten konnten im frischen Blut auch sich bewegende Blutplättchen beobachtet werden. Ihre Bewegung ist nicht von Brownscher, sondern von viel langsamerer, drehender, sich windender biologischer Bewegungsart.

d) *Die Bewegung der freien Granula.* Unseren Untersuchungen nach müssen die sich im Blut frei befindenden und zumeist eine lebhaftere Bewegung aufweisenden Granula als separate morphologische Elemente angesehen werden. Ihre Bewegung ist lebhafter als die der Blutplättchen.

2. *Die morphologischen Elemente des konservierten Blutes.* Wir verglichen unsere frischen Präparate, a) mit dem Abbéschen Durchleuchtungsbild, b) mit dem Phasenkontrastbild, c) mit dem Dunkelfeldbild, und schließlich d) mit dem plastischen Bild.

Mit unseren diesbezüglichen Untersuchungen bezweckten wir die Auswertung der mit dem 3D-Kondensator erhaltenen Ergebnisse.

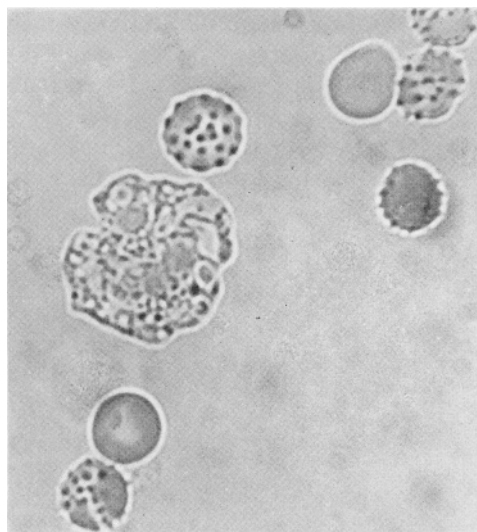


Abb. 2. Frisches menschliches Blut in feuchter Kammer, ungefärbt. Aufnahme: HI. 90 x achromat. Objektiv, 6,3:1 Projektiv (grüner Filter). Aufnahme mit Abbé-Kondensator.

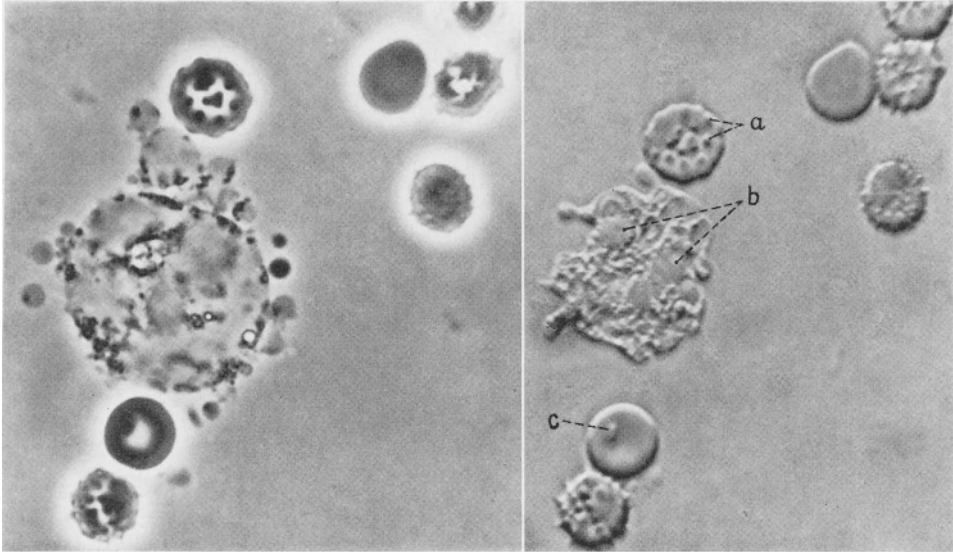


Fig. 3

Fig. 4

Abb. 3. Wie Abb. 2. Phasenkontrastaufnahme. Die Bilder der roten Blutkörperchen sind nicht formtreu, die Kerne der polynuklearen Leukozyten sind nicht zu sehen. Das Bild der morphologischen Elemente – besonders der Erythrozyten – wird durch den sog. Randeffekt (Halo) stark gestört. Infolge der Überbeleuchtung ergeben sich starke Verzerrungen. Erklärung siehe in Abb. 4.

Abb. 4. Wie Abb. 2. Aufnahme mit dem 3D-Kondensator. Die roten Blutkörperchen sind formtreu, d.h. verzerrungsfrei und plastisch. Die sich aus dem Plasma hervorhebenden Kerne der polynuklearen Leukozyte sind gut zu sehen. Auch die ebenfalls plastischen Granulationen der roten Blutkörperchen und der polynuklearen Leukozyte sind gut erkennbar. a = Im Inneren des roten Blutkörperchens befindliche, die Zellmembran hervorwölbende Granula. b = Die Kerne der polynuklearen Leukozyte. c = Vereinzelt Granulum, das sich aus dem roten Blutkörperchen hervorhebt. Auf demselben roten Blutkörperchen ist die Oberflächenkonkavität der roten Blutzelle gut zu beobachten.

Zwischen der 2., 3. und 4. Aufnahme vergingen 20 Minuten. Inzwischen veränderte die polynukleare Leukozyte ihre Form und Größe.

*Die hämatologische Bedeutung der mit dem 3D-Kondensator  
ausgeführten Untersuchungen (Abb. 2-4)*

Unsere Untersuchungen ergaben folgende Ergebnisse:

1. Die mit dem 3D-Kondensator hergestellten Bilder sind verzerrungsfrei.
2. Die Bilder sind formtreu und sind außerdem in drei Dimensionen gut zu beurteilen.
3. Oberflächenuntersuchungen vollkommen objektiver Art können nur mit dem 3D-Kondensator ausgeführt werden. Im plastischen Gesichtsfeld läßt sich gut feststellen, daß sich die einzelnen Strukturelemente auf der unteren Oberfläche der Zelle, in den Zellen selber oder auf deren Oberfläche befinden.

4. Da das Auflösungsvermögen mit dem 3D-Kondensator fast das theoretisch berechnete Maximum erreicht, erhalten wir von den untersuchten morphologischen Elementen ein aufschlußreicheres Bild.

5. Aus dem Umstand, daß die Phasenkontrastbilder von nun an nicht nur mit den Durchleuchtungs- (Abbéschen) Bildern verglichen werden können, sondern auch mit den durch den 3D-Kondensator bewirkten plastischen Bildern, ergibt sich die Möglichkeit, von den untersuchten Objekten einen vollkommenen Eindruck zu gewinnen.

6. Dadurch, daß mit dem 3D-Kondensator die Dunkelfeldbilder besser zu sehen sind und leichter eingestellt werden können als mit dem Kardiod-Kondensator und auch mit trockenen Linsen hergestellt werden können, ergibt sich eine neue Vergleichsmöglichkeit zur Auswertung hämatologischer Bilder.

7. Einen großen Vorteil bedeutet ferner jeder Umstand, daß mit dem 3D-Kondensator und Achromat-Objektiven ein fast genauso gutes Bild erhältlich ist, als wenn mit dem Abbé-Kondensator Achromat-Objektive verwendet werden.

8. Das durch den 3D-Kondensator bewirkte Bild ist, obwohl es plastisch (dreidimensional) ist, dennoch kein Stereo-Bild, da es auch mit monokularem Tubus ersichtlich ist und der Vergrößerungsgrad mit der der Kapazität des Mikroskops entsprechenden Vergrößerung identisch ist. Hingegen läßt sich die Vergrößerung der Stereo-Bilder über das 150fache nicht erhöhen.

9. Bei der Farbenphotographie übertrifft die Farbentreue des 3D-Kondensators die der Durchleuchtungsmethoden.

### Summary

The morphological elements of the blood and their movements were examined in 1-, 10- and 20-day-old preserved blood in wet chamber (sterile physiological salt-solution, room temperature). Red blood cells containing biogranules have a specific *biological* ("wheel-like") movement, which is not identical with the Brown movement. *The free granules of the plasma have to be considered as the fourth morphological element of the blood.*

Our so-called 3D condenser, based upon a *combined* illumination, increases the resolving power of the microscope and produces a plastic picture without distortion.