

ATLAS DER PHASENKONTRASTHÄMATOLOGIE

unter besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse im Kindesalter

von

HANSJÜRGEN RIND

Dr. med., Assistent der Universitätskinderklinik
der Charité, Berlin

mit Beiträgen von

H. Beyer

Diplomphysiker
Wissenschaftlicher Mitarbeiter
im VEB Carl Zeiss, Jena

H. Stobbe

Dr. med., Assistent der
I. Medizinischen Universitätsklinik
der Charité, Berlin

F. Gabler

Dr. Ing., a. o. Professor
an der Technischen Hochschule, Wien
Leiter des wissenschaftlichen Büros der
C. Reichert Optische Werke AG Wien

und einem Geleitwort von

Prof. Dr. F. H. Dost

Direktor der Universitätskinderklinik
der Charité, Berlin

*Mit 1121 Abbildungen
in 1259 Einzeldarstellungen*

AKADEMIE-VERLAG · BERLIN 1958

Copyright 1958 by Akademie-Verlag GmbH, Berlin

Erschienen im Akademie-Verlag GmbH, Berlin W 8, Mohrenstraße 39

Alle Rechte vorbehalten

Lizenz-Nr. 202 · 100/292/58

Klischees: Sachsen-Druck Plauen · Sinsel & Co. KG, Leipzig

Satz, Druck und Einband: C. G. Röder, Leipzig III/18/2-41569

Bestell- und Verlagsnummer: 5250

Printed in Germany

ES 17 F 1

Meinem Lehrer
Herrn Professor Dr.med. F. H. Dost

GELEITWORT

Mikroskop und Teleskop als Augenhilfen zur Verdeutlichung der Struktur und des Umrisses solcher Objekte, deren Bild das unbewaffnete Auge nicht zu erkennen oder aufzulösen vermag, haben nach ihrer Erfindung zunächst eine ganz ähnliche Weiterentwicklung genommen, insofern nämlich, als es um die Verwirklichung des Zieles ging, den Beobachter in möglichst vollkommener Weise dem Objekt nahe zu rücken, der sein Auge, aus unterschiedlichen Gründen zwar, ebensowenig in eine Zelle versenken wie den Sternen annähern kann.

Schrittmacher hierbei waren in erster Linie die zunehmenden optischen und technischen Erfahrungen bei der Konstruktion von Objektiven immer höherer Leistungsfähigkeit, um beim Mikroskop durch möglichst kurze, beim Teleskop durch möglichst lange Brennweiten im Tubus ein reelles Zwischenbild von denkbarer Größe zu erzeugen. Aber dem Auflösungsvermögen jedes optischen Vergrößerungsgerätes ist, wie schon FRAUNHOFER und HELMHOLTZ erkannt haben und ABBE ausführlich begründet hat, eine wohldefinierte Grenze gesetzt, die aus den Beugungsgesetzen des Lichtes, d. h. aus seiner Wellennatur abgeleitet werden kann. Wie nämlich das Bild eines Fixsternes auch im größten Spiegelteleskop keine eigentliche Vergrößerung erfährt, sondern lediglich als sogenanntes Beugungsscheibchen erscheint, so ist auch der kleinste Abstand zweier Punkte, die man im Mikroskop bei stärkster Vergrößerung eben noch getrennt wahrnehmen kann, nach den Beugungsgesetzen abhängig von der Wellenlänge des Lichtes und vom Kehrwert der numerischen Apertur des verwendeten Objektivs. Diese Erkenntnis hat es zugelassen, durch Einführung von Immersionssystemen die physikalisch definierte Grenze des Vergrößerungsvermögens in fast vollkommener Weise zu erreichen, womit gegen Ende des vergangenen Jahrhunderts die Entwicklung des Lichtmikroskopes im Grundsatz vollendet gewesen war. Was bis in die dreißiger Jahre noch folgte, war außer vielfältiger Verbesserung des Komforts nicht mehr, als das Ergebnis verschiedener Bemühungen, optische Variationen am Kondensorsystem vorzunehmen, um besonders die Intensität der Beleuchtung zu verbessern oder aber auch, um besondere Beleuchtungseffekte zu erzielen.

Anders beim *Phasenkontrastverfahren*, zu dessen Kennzeichnung sich am ehesten sagen ließe, daß es mit seiner Hilfe gelingt, unter Anwendung eines optischen Kunstgriffes Strukturen unmittelbar in ihrer *nativen Verfassung* sichtbar zu machen, welche im üblichen Mikroskop zufolge des geringen Unterschiedes ihres Brechungsvermögens von demjenigen ihrer Umgebung durch das Auge nicht mehr wahrgenommen werden können und daher allenfalls erst nach künstlicher Imprägnierung mit den verschiedensten Farbstoffen in Erscheinung treten.

Dies aber besagt, daß der Phasenkontrastmikroskopie bei der Beobachtung *lebender Objekte* hervorragende Bedeutung zukommt, was wiederum mit der Feststellung gleichbedeutend ist, daß die besondere Stärke dieses Verfahrens nicht so sehr auf histologischem, als vielmehr auf zytologischem Gebiet liegt. Hier nun gerade ist es die klinische Hämatologie, die sich durch das neue Verfahren aus einer gewissen Erstarrung zu lösen beginnt, in welcher sie befangen blieb, solange sie sich aus der Todeswelt nicht zu lösen vermochte, die nun einmal das getrocknete, fixierte und gefärbte hämatologische Präparat darstellt.

Freilich bedarf es eines Auges, wohlgeübt, die neuartigen Phasenkontrastbilder zu betrachten, einer nicht geringen Erfahrung, das Erblickte zu deuten und mit dem herkömmlichen

Wissensgut der Hämatologie zu vereinen. Diese gewiß nicht geringen Voraussetzungen hat sich mein Assistent, Dr. Rind, in langen Jahren hämatologischer Arbeit geschaffen, so daß der vorliegende „Atlas der Phasenkontrasthämatologie“, für dessen Gestaltung auch die dankenswerte Mitarbeit einiger anderer erfahrener Fachmänner gewonnen werden konnte, nunmehr der ärztlichen Öffentlichkeit vorgelegt werden kann. Die vielfältigen Ergebnisse der Berliner Charité, besonders aber deren Kinderklinik, haben in diesem Werk ihren Niederschlag gefunden und möchten dazu beitragen, den Ausdruck hämatologischer Diagnose zu verfeinern.

F. H. Dost

VORWORT

Vor 25 Jahren, im April 1933, wurde das Phasenkontrastverfahren als „neue Methode der mikroskopischen Beobachtung“ von dem holländischen Professor für theoretische Physik, Fritz ZERNIKE, publiziert. Heute hat diese Untersuchungsmethode, bei der die Strukturdarstellung in bisher nicht gekannter Klarheit und mit unübertroffenem Kontrastreichtum ohne jeden Eingriff am Objekt erfolgt, weite Verbreitung gefunden und sich vor allem zur Beobachtung lebender Zellen auf den verschiedensten Forschungsgebieten der Biologie und Medizin hervorragend bewährt.

In der Hämatologie führte die Anwendung des Phasenkontrastverfahrens zu einer neuen Arbeitsrichtung, der *Phasenkontrasthämatologie*, die sich unter den Bedingungen des frischen Vitalpräparates oder auch der Gewebekultur mit der Untersuchung nativer Blut- und Knochenmarkzellen befaßt. Im Gegensatz zu den Gegebenheiten des abgeblendeten Hellfeldes und Dunkelfeldes lassen sich dabei nicht nur die sichtbaren Lebensäußerungen der Zellen bewerten, sondern auch ihre einzelnen Bestandteile und deren Veränderungen während des Funktionsablaufes einwandfrei erkennen. Die morphologische Zellbeurteilung im fixierten und gefärbten Ausstrichpräparat wird damit in besonderer Weise ergänzt und erweitert.

In der Grundlagenforschung brachte die Beobachtung im Phasenkontrastmikroskop zahlreiche noch ungeklärte Probleme einer Lösung näher, da sie eine bisher unerreichte Vorstellung vom strukturellen Aufbau vitaler Blut- und Knochenmarkzellen vermittelt und weitgehende Rückschlüsse auf ihr funktionelles Verhalten im Organismus zuläßt; so konnte u. a. der Modus der Erythroblastenentkernung oder die Thrombozytenentstehung durch direkte Beobachtung des Geschehens inzwischen ermittelt werden, während andere Fragestellungen, wie z. B. die zellulären Vorgänge bei der Phagozytose, experimentell faßbar wurden. Die hier gewonnenen Ergebnisse und neuen Erkenntnisse ließen die Phasenkontrasthämatologie in zunehmendem Maße Eingang in die klinisch-hämatologische Diagnostik finden.

Das phasenoptische Bild der Blut- und Knochenmarkzellen weist gegenüber ihrer färberischen Darstellung einige prinzipielle Unterschiede auf, wodurch die Befunde beider Untersuchungsmethoden nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden können, zumal im Phasenkontrastmikroskop häufig Strukturen sichtbar sind, die mit den üblichen Färbefahren nicht erfaßt werden. Die Identifizierung der Zellen bereitet daher, vor allem dem ungeübten Untersucher, oft Schwierigkeiten und führt zu einer gewissen Unsicherheit in der Beurteilung. Da auch die sonst übliche Konsultation erfahrener Fachleute durch Übersenden von Ausstrichen wegen der begrenzten Haltbarkeit der Vitalpräparate nicht erfolgen kann, macht sich das Fehlen eines ausführlichen morphologischen Nachschlagewerkes auf dem Gebiet der Phasenkontrasthämatologie besonders bemerkbar.

Der vorliegende Atlas der Phasenkontrasthämatologie gibt eine Übersicht über die Morphologie und Variationsbreite normaler und pathologischer Blut- und Knochenmarkzellen. Als Nachschlagewerk, das den praktischen Bedürfnissen der phasenoptischen Untersuchung des Blutes und Knochenmarkes gerecht werden soll, wurde der umfangreiche Bildteil durch eine allgemeine Einführung in die physikalisch-optischen Grundlagen des Verfahrens und durch eine ausführliche Beschreibung der Technik der Phasenkontrastmikroskopie und Foto-, sowie Film-

dokumentation ergänzt. Außerdem wurde auch der von WILSKA entwickelte Anoptralkontrast berücksichtigt, der eine besondere Modifikation des Phasenkontrastes darstellt.

Der Atlas gliedert sich in drei Teile, denen eine Aufstellung über die morphologische Charakteristik der einzelnen Zellarten in Tabellenform folgt. Ferner enthält er eine Literaturübersicht, die nicht nur die zitierten Autoren berücksichtigt, und ein ausführliches Sachverzeichnis.

Im ersten Teil werden die allgemeinen Grundlagen und die Methodik der Phasenkontrastuntersuchung behandelt. Die Beiträge über das Phasenkontrastverfahren und das Anoptralkontrastverfahren wurden dabei von Herrn Diplomphysiker H. BEYER, Jena, bzw. Herrn Professor F. GABLER, Wien, hervorragenden Kennern der Materie, verfaßt. Beiden Herren bin ich für ihre Mitarbeit zu besonderem Dank verpflichtet. Die Beschreibung der Methodik stützt sich auf die eigene, in langjähriger praktischer Tätigkeit erprobte Arbeitstechnik, wobei im Hinblick auf die Bedeutung der Mikrofotografie und Kinematografie für die Dokumentation und Auswertung der erhobenen Befunde die hier auftretenden Fragen eingehend erörtert werden.

Der zweite Teil gibt an Hand von 1041 Abbildungen eine umfassende Darstellung der Morphologie normaler und pathologischer Zellen sowie charakteristischer Blut- und Knochenmarkbefunde. Die Einteilung und Bezeichnung der einzelnen Zellarten wurde dabei weitgehend nach der von UNDRITZ in den „Hämatologischen Tafeln Sandoz“ angegebenen Systematik und Terminologie vorgenommen. Eine Ausnahme bilden unter anderem die Drüsenfieberzellen und retikuloendothelialen Elemente, deren Einordnung nach rein morphologischen oder differentialdiagnostischen Gesichtspunkten erfolgte. Einige sehr selten vorkommende Stammzellen oder unreife Zellformen konnten bisher nicht mit der erforderlichen Sicherheit identifiziert werden.

Der Text beschränkt sich auf kurze Angaben über die morphologischen Besonderheiten der jeweiligen Zellart und auf eine Erklärung der Bilder, wobei gelegentlich von Situationsskizzen Gebrauch gemacht wird. Die Überschriften im Text, die sich auf die nachfolgenden Abbildungserläuterungen beziehen, weichen dabei unwesentlich von den Angaben im Inhaltsverzeichnis ab, weil dieses dem Benutzer zugleich einen systematischen Überblick über die einzelnen Zellarten geben soll. Bei den Abbildungen handelt es sich ausschließlich um Mikrofotos, die mit der jeweils angegebenen Gesamtvergrößerung reproduziert wurden.

Herrn Dr. H. STOBBE, Assistent der I. Medizinischen Universitätsklinik der Charité, Berlin, möchte ich nicht nur für die Überlassung von Untersuchungsmaterial, sondern auch besonders für seine Beiträge über die Megalopoese, den Morbus Biermer-Addison, die Monozytenleukämie und die Kahlersche Krankheit danken.

Der dritte Teil befaßt sich mit der Morphologie der Blut- und Knochenmarkzellen bei Anoptralkontrastmikroskopie. In 53 Bildpaaren werden dieselben Zellen im positiven Phasenkontrast und Anoptralkontrast abgebildet, doch beziehen sich die Abbildungslegenden und Texterläuterungen nur auf die Anoptraldarstellung. Die Gegenüberstellung der Bilder soll einen Vergleich beider Untersuchungsmethoden ermöglichen, die die einzelnen Zellstrukturen in verschiedener Weise zur Darstellung bringen.

Meinem verehrten Lehrer und Klinikchef, Herrn Professor Dr. F. H. DOST, möchte ich auch an dieser Stelle für die großzügige Förderung und Unterstützung meiner Arbeiten sowie für seine wertvollen Hinweise und Ratschläge zur Übernahme der gewonnenen Erfahrungen in die klinische Diagnostik meinen Dank abstaten.

Mein Dank gilt nicht zuletzt dem Akademie-Verlag für sein entgegenkommendes Eingehen auf meine Wünsche und die vorzügliche Ausstattung des Atlases. Besondere Anerkennung verdienen auch die Mitarbeiter der Ätzanstalten Sinsel & Co. KG, Leipzig und Sachsendruck Plauen, sowie der Druckerei C. G. Röder, Leipzig, die mit hoher Kunstfertigkeit und großem Einfühlungsvermögen die Reproduktion der Mikrofotos durchführten.

H. Rind

INHALTSVERZEICHNIS

ERSTER TEIL

Allgemeine Grundlagen der Phasenkontrastuntersuchung und eigene Methodik

A. Physikalisch-optische Grundlagen

I. Das Phasenkontrastverfahren von H. Beyer

1. Einleitung	3
2. Geschichtlicher Rückblick	4
3. Optische Grundlagen	5
a) Geometrische Optik	5
b) Einiges aus der Wellenoptik	6
Licht als Wellenbewegung	6
Interferenz des Lichtes	7
Beugung des Lichtes	8
4. Das Phasenkontrastverfahren	9
a) Amplituden- und Phasenobjekte	9
b) Die Phasenkontrastabbildung	10
c) Die Phasenkontrasteinrichtung	12
5. Zusammenfassung	14

II. Das Anoptalkontrastverfahren von F. Gabler	16
--	----

B. Grundlagen der hämatologischen Phasenkontrastuntersuchung

I. Die Bewertung des phasenoptischen Bildes

1. Strukturdarstellung	19
2. Absterbeerscheinungen	23
3. Artefakte	23

II. Allgemeine Untersuchungsmethodik	24
--	----

C. Eigene Technik der Phasenkontrastmikroskopie und Dokumentation

I. Die Phasenkontrastmikroskopie

1. Mikroskoppausrüstung	26
2. Einstellung und Zentrierung des Phasenkontrastmikroskops	27
3. Anfertigung der Präparate	28
a) Peripherblutpräparate	28
b) Knochenmarkpräparate	29

II. Die Phasenkontrastmikrofotografie

1. Apparative Ausstattung	30
2. Abbildungsmaßstab auf dem Film	31

3. Aufnahmetechnik	31
4. Belichtungszeit	32
5. Filmmaterial und Negativentwicklung	32
6. Aufnahmeprotokoll	33

III. Die Phasenkontrastmikrokinematografie

1. Aufnahmeapparatur	34
2. Justierung von Mikroskop und Kamera	34
3. Aufnahmefrequenz	36
4. Abbildungsmaßstab	36
5. Beleuchtung	37
6. Filmmaterial	37
7. Belichtung des Filmes	37
8. Herstellung der Probestreifen	38
9. Aufnahmeprotokoll	38
10. Signierung der Filme	39
11. Durchführung der Aufnahme	40

ZWEITER TEIL

Morphologie der normalen und pathologischen Einzelzelle sowie charakteristische Blut- und Knochenmarkbefunde

A. Die Stammzellen

Verschiedene Zellformen	42
-----------------------------------	----

B. Die Erythrozyten

I. Die Normozyten

1. Erythropoese	46
a) Entwicklungsstadien	46
b) Mitosen	52
c) Polyploidie	58
d) Atypische Zellen	60
e) Degenerationsformen und Artefakte	64
2. Erythroblastenentkernung (Kernausstoßung).	66
3. Retikulozyten	70
4. Normozyten	78
5. Pathologische Erythrozyten	80
6. Sphärozyten	84
7. Innenkörper und innenkörperähnliche Strukturen	86
8. Krankheitsbilder	90
a) Erythrophagozytose	90
b) Erythrozytenanhangphänomen bei paroxysmaler Kältehämoglobinurie	92
c) Idiopathische hämolytische Anämie	96
d) Autoimmunoanämie	96
e) Hämolytisch-urämisches Syndrom, Gasser	100
f) Symptomatische hämolytische Anämie beim Neugeborenen	102
g) Morbus haemolyticus neonatorum	104

II. Die Megalozyten

1. Megalopoese von H. STOBBE	110
2. Morbus Biermer-Addison von H. STOBBE	112
3. Megaloblastenmark bei Zöliakie	114

C. Die Leukozyten

I. Die Neutrophilen

1. Entwicklungsstadien	116
2. Mitosen	122
3. Polyploidie	124
4. Kernsatelliten	124
5. Bewegung	126
6. Phagozytose	128
7. Doehlekörperchen, toxische Granulation, Granulationsanomalie	130
8. Varia (Glanzkörner, Vakuolen, formes étalées usw.)	132
9. Atypische Zellen	136
10. Degenerationsformen und Artefakte	140
11. Krankheitsbilder	142
a) Pelger-Huëtsche familiäre Kernanomalie	142
b) Panmyelopathie	146

II. Die Eosinophilen

1. Entwicklungsstadien und Mitosen	154
2. Bewegung	158
3. Varia (Vakuolen, Glanzkörner usw.)	160

III. Die Blutbasophilen

Verschiedene Zellformen	162
-----------------------------------	-----

IV. Die Monozyten

1. Entwicklungsstadien	164
2. Verschiedene Zellformen	166
3. Mitosen	170
4. Bewegung	172
5. Phagozytose	174
6. Varia (Vakuolen, Glanzkörner, Polyploidie)	176
7. Atypische Zellen und Degenerationsformen	178
8. Monozytoidzellen (Drüsenfieberzellen)	182
9. Pfeiffersches Drüsenfieber	184

V. Die Lymphozyten

1. Entwicklungsstadien und verschiedene Zellformen	190
2. Bewegung	200
3. Varia (Glanzkörner, Plasmaeinschlüsse usw.)	204
4. Atypische Zellen, Degenerationsformen und Artefakte	206
5. Akute infektiöse Lymphozytose	208

VI. Die Leukämien

1. Leukosen beim Kind	210
a) Phasenoptische Typeneinteilung der Leukosen	210
b) Verschiedene Krankheitsbilder	212
c) Leukosezellen im Liquor	242
2. Myeloische Leukämie	244
3. Lymphatische Leukämie	246
4. Monozytenleukämie von H. STOBBE	250

D. Die Megakaryozyten — Thrombozyten

I. Die Megakaryozyten

1. Entwicklungsstadien	252
2. Degenerationsformen und pathologische Zellen	256
3. Megakaryozyten bei Immuno­thrombopenie	258
4. Mitosen	262

II. Die Thrombozyten

1. Normale Thrombozyten	264
2. Pathologische Thrombozyten	266

E. Die retikuloendothelialen Elemente

I. Die Plasmazellen

1. Entwicklungsstadien und verschiedene Zellformen	268
2. Polyploidie	274
3. Mitosen	274
4. Varia (Glanzkörner, Russelkörperchen, Vakuolen usw.)	276
5. Bewegung	278
6. Degenerationsformen und Artefakte	280

II. Die Retikulumzellen

1. Verschiedene Zellformen	282
2. Mottsche Zellen	286
3. Lipophagen	286
4. Makrophagen	288
5. Speichernde Retikulumzellen	288

III. Die Gewebsbasophilen

Verschiedene Zellformen	290
-----------------------------------	-----

IV. Die Endothelzellen

Verschiedene Zellformen	292
-----------------------------------	-----

V. Krankheitsbilder

1. Kahlersche Krankheit (Plasmozytom) von H. STOBBE	294
2. Morbus Gaucher	296

F. Varia

1. Osteoblasten, Osteoklasten und Polykaryozyten	298
2. Kapillaren, Fibrinfäden, Charcot-Leydensche Kristalle	302
3. Degenerationsformen und Artefakte	302
4. Verunreinigungen	304
5. Fetttropfen und Luftblasen	304

G. Besondere Blut- und Knochenmarkbefunde

1. Das Knochenmark beim Kind	304
2. Das Peripherblut bei Frühgeburten und Neugeborenen	308
3. Sympathogoniom	312
4. Sympathoblastom	316
5. Tumorzellen im Knochenmark	320
6. Malaria tertiana	322

DRITTER TEIL

Anoptralkontrastmikroskopie

*Vergleichende Darstellung derselben Blutzellen im positiven Phasenkontrast
und Anoptralkontrast*

1. Erythrozyten	334
a) Erythropoese	334
b) Innenkörper	336
c) Megaloblastenmark	336
2. Mitosen	338
3. Neutrophile	340
a) Entwicklungsstadien	340
b) Zellatypien	342
4. Eosinophile	344
5. Pelger-Huëtsche familiäre Kernanomalie	346
6. Leukämie	348
a) Leukosen beim Kind	348
b) Tumorleukämie	350
c) Myeloische Leukämie	352
7. Monozyten	354
8. Lymphozyten	356
9. Akute infektiöse Lymphozytose	358
10. Megakaryozyten	360
11. Plasmazellen	362
12. Retikulumzellen	362
Morphologische Charakteristik der einzelnen Zellarten	364
Literaturübersicht	373
Sachverzeichnis	380

ERSTER TEIL

Allgemeine Grundlagen der Phasenkontrastuntersuchung
und eigene Methodik

A. Physikalisch-optische Grundlagen

I. Das Phasenkontrastverfahren

von H. BEYER, Jena

1. Einleitung

Eines der wichtigsten Instrumente des Mediziners und Biologen ist das Mikroskop. Es hat die Aufgabe, solche Objekte und Objektstrukturen sichtbar zu machen, die das unbewaffnete Auge wegen ihrer Feinheit nicht erkennen kann, da die interessierenden Objekteinheiten dem Auge unter einem zu kleinen Winkel erscheinen. Es ist bekannt, daß das menschliche Auge zwei getrennte Punkte erst dann als solche wahrnehmen kann, wenn sie ihm mindestens unter einem Winkel von 40 Winkelsekunden oder rund 1 Winkelminute erscheinen. Das Mikroskop hat demnach die Aufgabe, die mikroskopischen Objekte so stark vergrößert abzubilden, daß die interessierenden Objekteinheiten dem Auge mindestens unter dem genannten Winkel erscheinen. Ist das dem Mikroskop gelungen, so sagt man, die Objekteinheiten sind aufgelöst. Die Auflösungsgrenze läßt sich auf Grund von theoretischen Überlegungen durch eine einfache Formel angeben. Dabei wird als selbstverständlich vorausgesetzt, daß sich die fraglichen Objekteinheiten in Farbe oder Helligkeit von der Umgebung unterscheiden, damit sie vom Auge überhaupt wahrgenommen werden können, denn das Auge spricht nur auf Farb- oder Helligkeitsunterschiede an. Die erste Forderung an das mikroskopische Bild ist also zunächst ausreichender Kontrast, gleichgültig ob die Beobachtung direkt oder über die Fotografie erfolgt. Leider liefern viele der medizinischen und biologischen Präparate von Natur aus in den für die Mikroskopie verwendeten Ausstrichen oder dünnen Schnitten den geforderten Kontrast nicht, obwohl in den meisten Fällen wesentliche Unterschiede physikalischer oder chemischer Natur vorhanden sind. Eine wasserklare Glaskugel z. B. ist in ungefärbtem Wasser auch kaum sichtbar, obwohl es sich hier um zwei grundverschiedene Stoffe handelt. (Der in optischer Hinsicht wesentliche Unterschied zwischen ungefärbtem Wasser und Glas liegt bekanntlich in ihrer Lichtbrechung.) Durch Anfärben des Wassers oder der Glaskugel läßt sich jedoch letztere sichtbar machen. Ähnliche Verhältnisse liegen bei den von Natur aus kontrastarmen medizinischen und biologischen Präparaten vor. Auch dort kann man in vielen Fällen durch Anfärben ausreichenden Kontrast hervorrufen. Man macht sich dabei die Eigenschaft mancher Substanzen zunutze, gewisse Farbstoffe bevorzugt anzulagern. Diese bis zur Einführung des Phasenkontrastverfahrens vorwiegend zur Kontraststeigerung benutzte Methode läßt sich jedoch nicht immer ohne Schwierigkeiten durchführen. Außerdem ist stets mit der Schädigung oder sonstigen Veränderung des Präparates in irgendeiner Form zu rechnen. Dieser doch recht erhebliche Eingriff führt bei lebenden Objekten in den meisten Fällen zum schnellen Absterben derselben.

Das Phasenkontrastverfahren dagegen könnte man als eine rein optische Färbemethode bezeichnen. Es nutzt den schon bei dem Beispiel der Glaskugel im Wasser vorhandenen Unterschied in den Brechzahlen zwischen Objekt und umgebendem Medium aus, um, ohne das von Natur aus kontrastarme Präparat selbst zu verändern, durch einen geeigneten Eingriff in den Abbildungsstrahlengang des Mikroskopes eine kontrastreiche Abbildung zu erzeugen. Aus den Brechzahlunterschieden im Präparat werden also Helligkeits- oder auch Farbunterschiede im Bild. Wieso das möglich ist und wie es geschieht, wird noch an anderer Stelle ausführlich behandelt.

Der Vorteil dieses neuen Untersuchungsverfahrens liegt ohne weiteres klar auf der Hand. Man ist nicht mehr auf die oft recht umständliche Färbemethode angewiesen, kann die Objekte in

ihrem natürlichen Einbettungsmittel beobachten und sogar Wachstums- und Teilungsvorgänge z. B. von Pilz- und Bakterienkulturen verfolgen. Von den mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens auf den verschiedensten Gebieten erzielten Erfolgen zeugen die nunmehr schon in die Hunderte gehenden, überwiegend nach 1945 veröffentlichten Arbeiten über diese neue Beobachtungsmethode. Man kann wohl ohne Übertreibung sagen, daß heute ein ernsthafter Mikroskopiker ohne Phasenkontrasteinrichtung kaum noch denkbar ist.

2. Geschichtlicher Rückblick

Als um die Jahrhundertwende auf Grund einer Reihe bahnbrechender Entdeckungen, wie z. B. der Röntgenstrahlen und der Radioaktivität, sowie der Begründung der Quanten- und der Relativitätstheorie, sich eine ganz neue Epoche naturwissenschaftlicher Forschung anbahnte, galt die Entwicklung des Lichtmikroskopes im wesentlichen schon als abgeschlossen. Durch das verständnisvolle Zusammenwirken des Mechanikers CARL ZEISS und des Physikprofessors ERNST ABBE hatten die in den Jenaer Optischen Werkstätten nach wissenschaftlichen Grundsätzen gefertigten optischen Geräte Weltruf erlangt. Dies war nicht zuletzt dem Bemühen ABBEs zu verdanken, der z. B. hinsichtlich der Fertigung von Mikroskopobjektiven das damals allgemein übliche „Pröbeln“ abschaffte und die Objektive nach vorheriger genauer Berechnung der optimalen Linsenkombination und deren Leistung fertigen ließ. Im Frühjahr 1873 veröffentlichte ABBE zwei Aufsätze über die Bildentstehung im Mikroskop, wo er die schon erwähnte Leistungsgrenze desselben angab und begründete. Als am Ende der 80er Jahre neben den Achromaten auch apochromatische Objektive hergestellt und geliefert werden konnten, war im Hinblick auf die optische Wirkung ein gewisser Abschluß erreicht. ABBE selbst war der Meinung, daß eine wesentliche Leistungssteigerung des Mikroskopes nur dann noch zu erwarten ist, wenn es gelingt, eine andere Strahlenart wesentlich kürzerer Wellenlänge für die mikroskopische Abbildung nutzbar zu machen. Das inzwischen entwickelte Elektronenmikroskop ist ein entsprechendes Gerät, da man auf Grund der neueren Anschauungen der Physik die Elektronenstrahlen als eine solche Strahlung besonders kleiner Wellenlänge auffassen kann. ABBE hat offenbar an eine Kontraststeigerung mit Hilfe einer dem heutigen Phasenkontrastverfahren ähnlichen Methode nicht gedacht, obwohl er in seiner Theorie der mikroskopischen Abbildung selbst die Grundlagen dafür erarbeitet hat. Er selbst hat auch Versuche durchführen lassen, die man als eine Vorstufe des Phasenkontrastverfahrens ansehen kann. Dafür, daß damals in dieser Richtung nicht weitergearbeitet worden ist, mögen vielleicht folgende Gründe maßgebend gewesen sein: Einerseits ist es selbstverständlich, daß man den zweiten Schritt nicht vor dem ersten tut, denn erst im Jahre 1886 konnte die erste Serie Apochromate angeboten werden, die dem Werk auf Jahrzehnte hinaus einen Vorsprung sicherten, da sie für den Mikroskopiker wegen ihrer ganz besonders guten Farbkorrektur einen außerordentlichen Fortschritt bedeuteten. Die manchmal etwas umständliche Färbung der Präparate hat man dann gern in Kauf genommen, so daß die Frage einer rein „optischen Färbemethode“ damals noch gar nicht so dringend war. Andererseits muß man sich darüber im klaren sein, daß durch Einfügen eines zusätzlichen, optisch wirksamen Elementes in ein ausgezeichnet korrigiertes optisches System, wie das bei einem Phasenkontrastobjektiv der Fall ist, der Korrektionszustand desselben beeinträchtigt wird. Das heißt, ein Phasenkontrastobjektiv kann, wenn es sich um die letzten Feinheiten handelt, bei Hellfeldbeobachtungen nicht dasselbe leisten wie ein sonst gleiches Hellfeldobjektiv.

Erst der holländische Professor für theoretische Physik, FRITZ ZERNIKE, hat einige Jahrzehnte später auf die „optische Färbemethode“ für die mikroskopische Praxis hingewiesen und gezeigt, daß es von der ABBEschen Theorie der Bildentstehung im Mikroskop bis zu dem von ihm vorgeschlagenen Phasenkontrastverfahren nur ein kleiner Schritt ist. Ihm ging es allerdings zunächst nur darum, Teilungsfehler optischer Gitter und Oberflächenfehler von Hohlspiegeln sichtbar zu machen. Er hat dabei erkannt, daß dieses Verfahren auch für das Mikroskop brauchbar