

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Wissenschaftlicher Film C 851/1962

Die Blutzellen im Vitalpräparat

Begleitveröffentlichung von

Prof. Dr. H.-J. ENGEL, REGINA SCHÜTZ und Dr. E. ZERBST, Berlin

Mit 1 Tabelle

GÖTTINGEN 1973

Die Blutzellen im Vitalpräparat

H.-J. ENGEL, REGINA SCHÜTZ, E. ZERBST, Berlin

Allgemeine Vorbemerkungen¹

Überlebende Blutzellen des Menschen in Deckglaspräparaten zu untersuchen ist eine der ältesten vitalmikroskopischen Methoden. Bereits JOHANNES v. MÜLLER, METSCHNIKOFF und ROBERT KOCH haben diese Methode angewendet. M. SCHULTZE [7] hat dann 1865 bei der Untersuchung überlebender Leukozyten außerdem einen heizbaren Objektisch benutzt. Die Migration und die Phagozytose der weißen Blutzellen konnten so im Hellfeld-Mikroskop beobachtet werden. Mit der Einführung der Zellfärbung durch EHRLICH [3] wurde die Untersuchung überlebender Blutzellen etwas in den Hintergrund gedrängt. Die fixierten und gefärbten Zellen wurden nun kontrastreicher dargestellt und waren deshalb leichter zu differenzieren. Die Fixierung und Färbung hat aber den Zelltod zur Folge. Aussagen zur Zelleistung und Zellqualität sind deshalb nicht mehr möglich.

Mit Einführen des Phasenkontrastverfahrens, das ungefärbte, überlebende Zellen erheblich kontrastreicher und besser differenziert darstellt als andere mikroskopische Verfahren bisher, hat das Interesse an der Vitaluntersuchung von Blutzellen in den vierziger Jahren wieder zugenommen.

Bei der Untersuchung überlebender Blutzellen kommen zu den bekannten morphologischen Differenzierungskriterien weitere, funktionelle Kriterien. So sind z. B. die Anpassungszeit an die Präparatbedingungen, die Wanderungsgeschwindigkeit, die Überlebenszeit und die Degeneration für jede Blutzellart jeweils charakteristisch und darüber hinaus vor allem meßbarer Ausdruck der Zellvitalität.

Trotz der wieder verstärkten Vitaluntersuchungen ist das Bild der weißen Blutzellen doch auch heute noch fast ausschließlich von der

¹ Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 19 u. 20.

Vorstellung geprägt, die vom fixierten und gefärbten Blutaussstrich stammt. Exakterweise müßte für überlebende, ungefärbte Blutzellen nun auch eine entsprechende Nomenklatur verwendet werden, die die Farbe außer acht läßt und dafür — neben den bekannten morphologischen Kriterien — solche funktioneller Art miteinbezieht. Schon WEIDENREICH [10] hat u. a. die Forderung nach einer eigenen Benennung vitaler Leukozyten erhoben. Um keine Verwirrung zu stiften, benutzen wir die EHRlichSche Nomenklatur so lange weiter, bis treffendere Bezeichnungen gefunden und allgemein akzeptiert worden sind.

Die Beobachtung der weißen Blutzellen *in vivo*, am klassischen Objekt, dem Froschmesenterium, ist meist nur innerhalb der Blutgefäße möglich. Der eigentliche Aktionsraum der Leukozyten ist aber das Gewebe. Erst dort entfalten sie ihre volle Aktivität. Der stimulierende Reiz für die starke Zellaktivität ist offensichtlich der enge Gewebsspalt. Flach ausgebreitet beginnen die Zellen schon relativ bald nach der Emigration im Gewebe zu wandern. Das Gewebe ist aber zu dick und uneben, um die emigrierten Zellen mit den dafür notwendigen, stark vergrößernden Objektiven dort weiter verfolgen zu können. Diese Objektive haben einen zu kleinen Arbeitsabstand und eine zu geringe Schärfentiefe.

In vitro, im Deckglaspräparat, sind die Zellen ähnlichen mechanischen Verhältnissen ausgesetzt wie im Gewebe. Sie werden bei der Präparatherstellung auch, je nach Größe, mehr oder weniger abgeflacht. Dadurch wird auch hier die Migration stimuliert! Eine möglichst geringe Schichtdicke der Präparate ist aber auch eine der wichtigsten Forderungen in der Mikroskopie. Je dünner die zu untersuchenden Objekte sind, je weniger können sich Überlagerungen von Strukturen störend bemerkbar machen. Für die Untersuchung von Leukozyten ist diese Forderung mit keinen Schwierigkeiten verbunden, da ja erst das Abflachen der Zellen deren Aktivität zur vollen Entfaltung bringt. Hier ergänzen sich also die biologischen Bedingungen in geradezu idealer Weise mit der optischen Forderung nach möglichst dünnen Präparaten!

Aber nur mit einer standardisierten Untersuchungsmethode sind reproduzierbare Ergebnisse und Meßdaten für Leukozyten zu erwarten! Vor allem muß die Präparathöhe nicht nur möglichst gering, sondern auch stets gleich sein. Sie ist einer der wichtigsten Faktoren und beeinflußt die Wanderungsgeschwindigkeit ebenso drastisch wie die Überlebenszeit! Als optimal hat sich eine Präparathöhe von 3—5 μm erwiesen. Aus entsprechenden Messungen hat sich ergeben, daß diese optimale Präparathöhe immer dann vorliegt, wenn die Blutzellen einschichtig in kleinen Abständen nebeneinander liegen.

Aber auch das Zentrifugieren des Blutes zur Zellanreicherung, gerinnungshemmende Zusätze, ein Wechsel des natürlichen Suspensionsmediums, die Beschaffenheit der Objektträger (Alkali-Abgabe) sowie die Temperatur beeinflussen die Ergebnisse wesentlich! Auch die Angabe

des Zeitpunktes der Untersuchung nach der Präparatherstellung ist bedeutungsvoll. So ist z. B. aus der Tabelle zu ersehen, daß die maximale Wanderungsgeschwindigkeit für neutrophile und eosinophile Granulozyten bereits etwa 2 Stunden nach der Präparatherstellung erreicht ist, während das Maximum für Lymphozyten erst bei etwa 8 Stunden liegt! Prinzipiell läßt sich jedes mikroskopische Verfahren für Vitaluntersuchungen des Blutes anwenden. Die kontrastreichste und beste Darstellung der Leukozyten erreicht man aber u. E. mit dem Phasenkontrastverfahren (ENGEL [4], [13]). Ob dabei der negative oder positive Phasenkontrast benutzt wird, ist vielleicht Geschmackssache. Wir meinen, daß der positive Phasenkontrast nach ZERNIKE [11] mehr der Vorstellung entspricht, die man allgemein vom Aufbau eines Objekts hat. Uns hat sich der positive Phasenkontrast, in Verbindung mit Apochromaten, als das Mittel der Wahl herausgestellt.

Zur Entstehung des Films

Wissenschaftliche Daten:

a. Die Emigration wird am intakten mesenterialen Kreislauf des Frosches gezeigt. Ein männlicher Frosch (*Rana esculenta*) wird mit 25%iger Urethan-Lösung narkotisiert (1 ml/50 g in den Rückenlymphsack) und nach Erlöschen der Rückenmarkreflexe auf eine Glasplatte gelegt. Auf der linken Körperseite wird ein etwa 5 mm langer Hautschnitt in Richtung Mundspalte geführt. Es wird in der Nähe des Oberschenkelansatzes begonnen. Die Äste der Hautarterien müssen unverletzt bleiben. Nach Anlegen eines gleichen Muskelschnittes wird eine Darm-schlinge vorgezogen und über einen Glaspflock von etwa 8 mm Durchmesser und 1 mm Höhe gelegt. Das Mesenterium muß glatt aufliegen und die Gefäße dürfen am Rand des Glaspflockes nicht abgedrückt werden! Alle Aufnahmen vom Mesenterium sind im Hellfeld-Durchlicht-Mikroskop gemacht.

b. Die normale Wanderung, die Phagozytose und die Degeneration der Leukozyten werden in vitro im Deckglaspräparat gezeigt. Das Blut wird dazu aus der Fingerbeere oder beim Frosch durch Sinuspunktion entnommen. Ein kleiner Tropfen wird sofort auf einen Objektträger gebracht und mit einem Deckgläschen abgedeckt. Der Blutropfen muß so klein sein, daß er sich — nach Auflegen des Deckglases — gerade eben bis an dessen Ränder gleichmäßig ausbreitet. Die Blutzellen liegen dann einzeln nebeneinander, die Präparathöhe beträgt 3—5 μm . Für die Bakterienphagozytose wird dem Blutropfen vor dem Eindecken jeweils eine kleine Öse Bakterien zugesetzt. Schließlich werden die Präparate allseitig mit erwärmtem Paraffin umrandet und bei Zimmertemperatur im Phasenkontrast-Mikroskop untersucht.

c. Die Thrombozyten und deren morphologische Veränderungen während der Fibrinnetzbildung werden im Deckglaspräparat demonstriert. Aus Liquemin 5000 I.E./ml wird mit 0,9%iger NaCl-Lösung eine Verdünnung von 6,25 I.E./ml hergestellt. In einer 10 ml-Spritze wird davon 1 ml vorgelegt und mit einer Flügelkanüle Blut bis zur Marke 10 aus der Vene entnommen. Diese Mischung wird in einem paraffinierten Zentrifugenglas 3 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert. Aus den mittleren bis unteren Schichten wird davon etwas in einen PVC-Schlauch der Stärke $1 \times 1,8$ aufgezogen und noch einmal 2 Minuten bei 500 bis 1000 U/min zentrifugiert. Die unterste Schicht wird dann auf einen sehr gut gereinigten Objektträger gesetzt — der Tropfen darf nicht zu groß sein! —, mit einem Deckgläschen abgedeckt und das Ganze mit erwärmtem Paraffin verschlossen. Die isolierten und kurzfristig stabilisierten Thrombozyten werden bei Zimmertemperatur im Phasenkontrast-Mikroskop untersucht.

Emigration

Über den Vorgang der Emigration von Leukozyten haben COHNHEIM [1], LAVDOWSKY [5] und WESTPHAL [9] ausführlich berichtet. Auch die Beschreibung der Autoren, die solche Untersuchungen an anderen Geweben durchgeführt haben — z. B. TANNENBERG [8], [15] am Kaninchenohr und Pankreas —, stimmen mit denen am Froschmesenterium überein.

Typisch für die mesenteriale Strombahn des Frosches sind, im Gegensatz zu anderen Strombahnen (DUNKER [12], NAUMANN [14]), die relativ vielen kleinen und großen arteriellen und venösen Gefäße und die nur geringe Anzahl von Kapillaren. Bei intaktem Kreislauf emigrieren die Leukozyten aus den kleinen Venen.

Ab einer kritischen, minimalen Stromgeschwindigkeit fallen die Leukozyten, aufgrund ihres geringen spezifischen Gewichts, in den Randstrom der Venen aus (SCHKLAREWSKY [6]). Zunächst rollen sie abgekugelt und inaktiv am Endothel entlang. Später bleiben sie an ihm haften. Anfangs werden sie vom Blutstrom tropfenartig verformt und können auch leicht wieder mitgerissen werden. Schließlich haften sie aber fest am Endothel. Es kommt dann zu aktiven Zellbewegungen: die Leukozyten bewegen sich amöboid — und stets gegen den Blutstrom — an der Gefäßwand entlang. An der Emigrationsstelle sind sie für kurze Zeit starr und bewegungslos, bis ein kleines Pseudopodium im Gewebe auftaucht. Die Emigration dauert zwar unterschiedlich lange, ist aber relativ kurz. Manche Leukozyten bleiben jenseits des Endothels eine Zeitlang abgekugelt liegen, wodurch das Endothel an dieser Stelle etwas in das Gefäßlumen vorgebuckelt wird. Andere Zellen breiten sich nach der Emigration gleich flach aus und wandern in gestreckter Form in den perivaskulären Raum ein.

Je langsamer der Blutstrom schließlich wird, um so mehr Leukozyten fallen in den Randstrom aus. Die Venenwände sind dann mit weißen Blutzellen förmlich austapeziert. Zu diesem Zeitpunkt finden auch noch Emigrationen statt, das Bild ist aber so unübersichtlich geworden, daß das Verhalten einzelner Leukozyten nur noch schwer zu verfolgen ist.

Gleich nach der Emigration bleiben in den noch offenen Endothelspalten ab und zu Erythrozyten hängen, die knopfartig in das Gewebe hineinragen. Sie werden vom Blutstrom aber schließlich wieder mitgerissen.

Leukozyten im Vitalpräparat

Der große Vorteil der Untersuchung ungefärbter, überlebender Blutzellen liegt darin, Bewegungs- und Funktionsabläufe sowie die Zelldegeneration verfolgen zu können. Außerdem werden in den überlebenden Zellen mehr Strukturen sichtbar, z.B. der in der Kernnähe liegende Zentralapparat. Er wird durch die strahlenartig gerichtete Granulakinetik auffällig markiert. In gut ausgebreiteten Zellen, insbesondere in den relativ großen Leukozyten des Froschblutes, ist die Zentrosphäre so weit entfaltet, daß auch die im hellen Zentrosom eingebetteten, dicht beieinanderliegenden Zentriolen zu erkennen sind. Aber auch in wandernden Zellen, speziell bei neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, wird das Cytozentrum durch die fließbandähnliche Granulakinetik gekennzeichnet.

Langzeitige, kontinuierliche Beobachtungen jeweils ein und derselben Zelle im Deckglaspräparat haben ergeben, daß sich die Zellbewegung stadienartig entwickelt! Die sich stetig steigende Aktivität kommt in drei fließend ineinander übergehenden Stadien zum Ausdruck, die wir mit Ruhe-, Bewegungs- und Wanderungsstadium bezeichnen.

Das Ruhestadium ist eine relativ kurze Anpassungszeit an die Präparatbedingungen: nur die Zellorganellen sind in Bewegung. Mit multiplen Zytoplasmaausbuchtungen am Zellrand beginnt das Bewegungsstadium. Dann werden Zytoplasmaausläufer gebildet, erst mehrere gleichzeitig, später nur einer, aber wechselnd an verschiedenen Stellen der Zelle. Dadurch bewegt sich die Zelle nun auf kleiner Fläche hin und her. In diesem ebenfalls relativ kurzen Bewegungsstadium ergibt sich infolgedessen ein ständig wechselndes und bizarres Zellbild! Schließlich wird aber ein Pseudopodium konstant beibehalten. Damit nimmt die Zelle eine gestreckte Form an und die Zellelemente ordnen sich in jeweils typischer Reihenfolge. Je nach Zellart befinden sich entweder die Granula oder der Kern im Zellende. Dieses nun gleichförmige Zellbild und die damit einsetzende gerichtete Bewegung charakterisieren das Wanderungsstadium. In diesem Stadium ist die Zelleistung (Wanderungs-

Differenzierungskriterien überlebender menschlicher Blutzellen bei Zimmertemperatur (um $\sim 21^{\circ}\text{C}$)
im Deckglaspräparat unter dem Phasenkontrastmikroskop

	Neutrophile Granulozyten	Eosinophile Granulozyten	Basophile Granulozyten	Lymphozyten kleine + große	Monozyten	Plasmazellen
Beginn des Wanderungsstadiums	etwa $\frac{1}{2}$ Stunde nach Präparatherstellung					etwa 5 Stunden nach Präparatherstellung
maximale Wanderungsgeschwindigkeit (nach Wanderungsbeginn)	18—20 $\mu\text{m}/\text{min}$ nach ~ 2 h	18—20 $\mu\text{m}/\text{min}$ nach ~ 2 h	8—12 $\mu\text{m}/\text{min}$ nach ~ 8 h	7—10 $\mu\text{m}/\text{min}$ nach ~ 8 h	wandern unregelmäßig, mit $\sim 10 \mu\text{m}/\text{min}$	etwa 1 $\mu\text{m}/\text{min}$ nach 20 h
Ordnung der Zellelemente im Wanderungsstadium (rel. Wanderungsrichtung)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pseudopodium 2. Granula 3. Kernsegmente 4. Endkörperchen 		<ol style="list-style-type: none"> 1. Pseudopodium 2. Kern 3. Granula 		<ol style="list-style-type: none"> 1. Pseudopodium 2. einige Granula 3. Kern 4. Menge der Granula 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pseudopodium 2. Kern 3. Granula
Zellform im Wanderungsstadium	gestreckt	gestreckt	handspiegel-förmig	handspiegel-förmig	trapez-förmig	rundlich
Granulakinetik im Wanderungsstadium	lebhaft	träge	kaum erkennbar	kaum erkennbar	mäßig	träge
Phagozytose	+	+	—	—	+	—
intrazelluläre Verdauung	+	—	—	—	+	—
Pinozytose	—	—	—	—	+	+
Überlebenszeit	~ 30 h	~ 30 h	~ 50 h	~ 60 h	~ 50 h	~ 50 h

geschwindigkeit) meßbar und bei Präparaten gleicher Höhe und Qualität sowie konstanter Temperatur erhält man stets reproduzierbare Werte (siehe Tabelle).

Phagozytose

Zur Darstellung der Bakterienphagozytose werden im Deckglaspräparat vitale Phagozyten und Bakterien in engen Kontakt gebracht. Es agieren nur neutrophile und eosinophile Granulozyten sowie Monozyten als Phagozyten. Sie werden von den Bakterien chemotaktisch angezogen. Der Vorgang der Phagozytose ist bei allen Phagozyten prinzipiell gleich. Die Phagozyten wandern meist sehr gradlinig und schnell — je nach Menge und Toxizität — auf die Bakterien zu, wobei Ruhe- und Bewegungsstadium so verkürzt sein können, daß die stadienartige Entwicklung der Zellbewegung kaum zu erkennen und die innere Ordnung der Zellelemente nicht immer charakteristisch ist. Kleinere Bakterienagglomerate werden von einem Phagozyten in toto aufgenommen, auf größere wandern mehrere Zellen mit breitem Pseudopodium so lange von allen Seiten zu, bis alle Bakterien eingeschlossen sind. Offensichtlich gelangen dann keine chemotaktischen Reize mehr durch den Leukozytenwall in die Umgebung. Die Desintegration der Bakterien hängt von ihrer Toxizität und der Größe des Bakterienhaufens ab.

Da normalerweise die neutrophilen Granulozyten am stärksten im Blut vertreten sind und deren Wanderungsgeschwindigkeit relativ hoch ist, kommen sie bei der Phagozytose den Monozyten meist zuvor und haben schon bald nach der Präparatherstellung viele Bakterien in sich aufgenommen. Um auch die Monozyten bei der Phagozytose beobachten und die Ingestionsmengen vergleichen zu können, müssen dem Präparat reichlich Bakterien zugesetzt werden. Es zeigt sich dann, daß neutrophile Granulozyten und Monozyten soviel phagozytieren, bis sie mit Bakterien vollgestopft sind und sich nicht mehr fortbewegen können.

Während der Ingestion wird die Granulakinetik heftiger und ungerichtet. Zusehends mehr Granula — in der Menge sind es primäre Lysosomen — lagern sich dem Phagosom an. Wenn sich ihre Fermente über das Phagosom ergießen, entsteht eine kleine „Vakuole“, ein intrazellulärer Verdauungskanal. Der Phagozyt degranuliert merklich und aus dem Phagosom wird ein Phagolysosom. Während der intrazellulären Verdauung können diese Verdauungsvakuolen verschwinden, d. h. nach außen entleert werden, und wieder neu entstehen. Nach EHRICH [2] werden mit der Flüssigkeit aus der Verdauungsvakuole die auf dem Weg der intrazellulären Verdauung aus den bakteriellen Antigenkomplexen segregierten „aktiven Moleküle“ in Form „löslichen Antigens“ in das Suspensionsmedium abgegeben. Sie induzieren die Antikörperbildung!

Die Phagozytose basiert zwar auf dem biologischen Grundphänomen der Verdauung, die intrazelluläre Verdauung steht aber nicht im Dienst der Assimilation, sondern der Dissimilation! Das bedeutet, daß die Phagozyten nicht etwa ständig „auf Nahrungssuche“ sind, sich also nicht von den Bakterien ernähren. Sie werden wie jede andere Körperzelle ernährt! Die Aufgabe der Phagozyten ist es, körperfremdes Material, das auf natürlichem Wege nicht aus dem Körper eliminiert werden kann, intrazellulär zu zerkleinern und möglichst löslich zu machen und damit zu dessen Ausscheidung beizutragen.

Leukozytendegeneration

Anhand morphologischer und funktioneller Veränderungen, die stets synchron verlaufen, läßt sich die Degeneration der Leukozyten in vier Stadien einteilen. Sie sind je nach Zellart unterschiedlich lang.

Das erste Degenerationsstadium ist gekennzeichnet durch das Absinken der Wanderungsgeschwindigkeit und eine sich verstärkende Kernwandhyperchromasie. Auch grobe Granula und Vakuolen bilden sich relativ früh.

Im zweiten Stadium wird die Migration erst selten, dann häufiger kurzfristig durch die Bildung multipler Pseudopodien unterbrochen. Nach deren Rückbildung kann die Zelle dann wieder normal weiterwandern.

Im dritten Stadium werden die multiplen Pseudopodien irreversibel. Sie verlängern sich tentakelartig, Granula fließen ein und schließlich schnüren sich kleine Cytoplasmainseln perlschnurartig ab. Lediglich Lymphozyten und basophile Granulozyten schnüren keine Zytoplasmainseln ab. Gleichzeitig steigert sich die Kernwandhyperchromasie bis zur Kernpyknose, wobei die Kernsegmente der neutrophilen und eosinophilen Granulozyten zusammenfließen. Das in der Pyknose ausgepreßte Kernwasser sitzt dann häufig dem nun dunkel-homogenen Kern als helles Kernhäubchen auf.

Im vierten und letzten Degenerationsstadium sind alle Veränderungen lytischer Art. Der pyknotische Kern quillt stark und wird hell. Eventuelle Granulabewegungen im ebenfalls lytischen Zytoplasma sind nun Brownsche Molekularbewegung. Die Überlebenszeiten bzw. Degenerationszeiten sind, wie in der Tabelle angegeben, für jede Leukozytenart unterschiedlich und charakteristisch.

Erythrozyten

Die Erythrozyten machen die Menge der Blutzellen aus. Durch ihre besondere Form — es sind Rotationskassinoide — haben sie eine größtmögliche Oberfläche, die ihrer Funktion zugute kommt.

Die enorme Flexibilität der Erythrozyten, die bei Kreislaufbeobachtungen besonders an Gefäßgabelungen sichtbar wird, ist auch in vitro ein Zeichen ihrer Integrität. Im Deckglaspräparat ist das intrazelluläre

Flackerphänomen ein zusätzliches Kriterium für ihre Funktionstüchtigkeit. Dieses Flackerphänomen, die Flexibilität und die Form sind aber nicht nur Hinweise auf die Unversehrtheit der Erythrozyten, sondern sie sind darüber hinaus auch ein empfindlicher Indikator für die im Suspensionsmedium herrschenden Verhältnisse. Um die Form der Erythrozyten besser anzudeuten, werden sie vergleichsweise auch bei schiefer Hellfeld-Beleuchtung gezeigt, die sie etwas plastischer darstellt.

Thrombozyten und Gerinnung

Das dritte Formelement des Blutes sind die Thrombozyten. Sie haben sich im Verlauf ihrer Geschichte zu einem höchst wichtigen und interessanten Funktionsbestandteil des Blutes entwickelt. Die Beteiligung der Thrombozyten an der Blutgerinnung, sie greifen in alle Phasen der Blutgerinnung ein, wird an isolierten und kurzfristig stabilisierten Blutplättchen demonstriert.

Kurz nach der Präparatherstellung imponieren sie noch als mehr oder weniger ovale, homogene Scheiben von 1 bis 3 μm Durchmesser. Infolge ihrer starken Adhäsionsneigung setzen sie sich schnell, vereinzelt oder in kleinen Häufchen, auf der Unterlage ab, breiten sich aus und quellen etwas. Deutlich ist dann das zentrale Granulomer vom umgebenden Hyalomer zu unterscheiden. Relativ bald bilden sich am Rand pseudopodienähnliche Spitzen. In diesem Zustand neigen die Thrombozyten besonders zur Aggregation. Wenn sie sich dann extrem weit ausbreiten, erkennt man gleichzeitig erste feine Fibrinfäden. Das spricht dafür, daß zu diesem Zeitpunkt bereits eine ausreichende Menge Thrombin vorhanden sein muß, die die sichtbare Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin und die visköse Metamorphose der Thrombozyten bewirkt. Schließlich vakuolisieren die Blutplättchen bei gleichzeitigem Granulaverlust: die Fibrinfasern nehmen an Zahl, Länge und Stärke zu und vereinigen sich zu Faserbündeln.

Die Plättchenadhäsion, die Quellung und Pseudopodienbildung sowie die Plättchenausbreitung und -aggregation sind das morphologische Substrat, das der provisorischen Blutstillung *in vivo* gleichzusetzen ist. Die Vakuolisierung, die Bläschenabgabe sowie der Granulaverlust bei gleichzeitiger Ausbildung verstärkter, engmaschiger Fibrinnetze trägt dagegen *in vivo* zur Bildung eines roten Verschlussthrombus bei.

Technische Daten:

Kamera: ASKANIA Z, Filmmaterial: Kodak Plus X und Tri X 35 mm, Filter: Interferenzfilter, Frequenz: 15 B/min bis 24 B/s, Mikroskop: ZEISS WL und LEITZ ORTHOLUX, Objektiv: Achromate 6,5/0,18, Uo 22/0,45, Uo-W 55/0,85: Apochromate 40/1,0 und 100/1,32, Okular: 4 \times und 6 \times , Kondensator: IV/Z 7 und Zweiblenden-Halbfeldkondensator nach BEREK, Lichtquelle: 100 + 30-W-Niedervoltlampe.

Erläuterungen zum Film¹

Erythrozyten

In den verzweigten Gefäßen des Froschmesenteriums ist das fließende Blut gut zu beobachten.

Bei hoher Stromgeschwindigkeit lassen sich einzelne Erythrozyten nicht unterscheiden. Bleiben sie an Gefäßgabelungen hängen, erkennt man ihre starke Flexibilität.

Im Vitalpräparat menschlicher Erythrozyten — der Träger des Hämoglobins — werden innerzelluläre Flackerbewegungen sichtbar.

Bei schräger Beleuchtung erkennt man die plastische Form der Erythrozyten. Sie sind kernlos und in der Mitte eingedellt.

Thrombozyten

Thrombozyten sind die kleinsten Blutelemente. Sie lösen bei ihrem Zerfall die Blutgerinnung aus.

Den Verlauf der Blutgerinnung zeigen die folgenden Zeitrafferaufnahmen isolierter Thrombozyten. Das zarte undulierende Hyalomer läßt sich vom zentralen Granulomer gut unterscheiden. Das Granulomer besteht aus dichtliegenden, feinen Granula, die sich beim Ausbreiten der Thrombozyten im Hyalomer verteilen. Vom zerfallenden Granulomer gehen die ersten Fibrinfäden aus. Langsam bilden sich immer mehr Fibrinfäden aus. Sie verstärken sich und verzweigen. Schließlich entsteht ein ausgedehntes Fibrinnetz.

Beim Gerinnungsvorgang im Blut werden in solchen Fibrinnetzen die roten und weißen Blutkörperchen gefangen.

Leukozyten

Das Phasenkontrastmikroskop macht gerade in den großen lebenden Leukozyten des Frosches die Zellstrukturen und die Dynamik der Zellen sichtbar. — Hier ein jugendlicher neutrophiler Granulozyt. In der Zellmitte liegt das Cytozentrum. Es besteht aus dem Zentrosom — dem kleinen, hellen granulafreien Bezirk — und der Zentrosphäre, die durch die allseitig, konzentrisch auf das Zentrosom zuströmenden Granula gebildet wird.

Auch eosinophile Granulozyten haben in der Nähe der Kernsegmente ein Cytozentrum. Das Zentrosom ist hier voller feiner Granula. Die radiäre Anordnung der Granula in der Zentrosphäre ist jedoch nicht so deutlich.

An Monozyten fallen besonders die feinen, schleierartigen Cytoplasmabewegungen am Zellrand auf. Sie sind ein Differentialdiagnostikum für Monozyten. Bei der Pinozytose werden mit diesen Cytoplasmaschleiern Teile des Blutplasmas umschlossen und in die Zelle aufgenommen.

In der Kerneinbuchtung liegt das Cytozentrum. Feine, staubartige Granula bilden die Zentrosphäre.

¹ Wortlaut des im Film gesprochenen Kommentars. Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

In Wanderungsrichtung dieses neutrophilen Granulozyten wird ein granula-freies Pseudopodium gebildet, in das die Granula dann einschließen. Der Zellkörper wird nachgezogen.

In fixierten und gefärbten, neutrophilen Granulozyten des Menschen sind Granula schlecht zu erkennen. Sie haben auch keine besondere Anordnung. Im Vitalpräparat, unter dem Phasenkontrastmikroskop, werden mehr Zellstrukturen sichtbar. Schon in ruhenden Zellen erkennt man durch die Bewegung der Granula das Cytozentrum.

Aus Art und Form der Wanderung ergeben sich neue Differenzierungsmöglichkeiten. *Neutrophile Granulozyten*¹ bilden frontal einen leeren, glatten Cytoplasmasaum. Darauf folgen die Granula mit dem Cytozentrum, dann die Kernsegmente. Neutrophilen Granulozyten hängt ein kleines Endkörperchen an.

Ein eosinophiler Granulozyt im Ausstrichpräparat mit den typischen großen Granula.

Erst im Vitalpräparat und durch das Phasenkontrastmikroskop werden neben den spezifischen großen Granula auch kleine Granula sichtbar.

Eosinophile Granulozyten wandern relativ langsam und schwerfällig. Das Cytozentrum bleibt auch während des Richtungswechsels bestehen. Endkörperchen sind bei ihnen nicht so häufig.

Basophile Granulozyten fallen durch unregelmäßige, plumpe Granula auf, die den Kern überlagern. Die Zellgrenzen sind im Ausstrich meist unregelmäßig. Lebende, ruhende basophile Granulozyten sind rund, die großen Granula bedecken nicht den gelappten, grobstrukturierten Kern.

Deutlicher tritt der unregelmäßig gelappte Kern bei der Wanderung hervor. Er folgt gleich auf den ausgefräusten, granulafreien Cytoplasmasaum. Die Granula liegen immer hinter dem Kern.

Der Monozyt hat im Ausstrichpräparat selten Granula. Seine Zellgrenzen sind glatt.

Im Vitalpräparat erkennt man viele feine Granula, die in der Kerneinbuchtung ein Cytozentrum bilden. An den Zellrändern fallen feine, schleierartige Cytoplasmabewegungen auf, mit denen bei der Pinozytose Blutplasma in Form heller Vakuolen in die Zelle aufgenommen wird.

Monozyten wandern selten und nur kurze Strecken. Sie haben keine streng ausgeprägte Wanderungsform.

Für Lymphozyten im Ausstrichpräparat sind rundliche, kompakte Kerne mit schmalen Cytoplasmasäumen typisch.

Lebende, ruhende *Lymphozyten* haben teils runde, teils eingebuchtete Kerne. In der Kerneinbuchtung liegt das Zentrosom, auf das die stäbchenförmigen Granula zustreben. Das Cytoplasma ist in schwacher Bewegung.

Bei der Wanderung bilden Lymphozyten ein unregelmäßiges, relativ großes Pseudopodium. Darauf folgen der Kern und dann die Granula, die zum Teil im Endkörper liegen. Diese Form der Wanderung ist typisch für Lymphozyten.

In den Gefäßen des Froschmesenteriums heben sich randständig die Leukozyten als leuchtende, runde Elemente deutlich von den im Axialstrom fließenden Erythrozyten ab.

¹ Die *kursiv* gesetzten Teile des Textes erscheinen als Einkopiertitel.

Oben eine kleine Arterie, unten die größere Begleitvene. Am Venenrand rollen Leukozyten.

Emigration

Ein neutrophiler Granulozyt hat sich zur Emigration festgesetzt. Mit einem Plasmafortsatz bohrt er sich in die Gefäßwand. Weiteres Cytoplasma wird ins Gewebe vorgeschoben. Jetzt zwängen sich die Kernsegmente durch. Während das restliche Cytoplasma nachgeholt wird, breitet sich die Zelle langsam im Gewebe aus.

Zwei weitere neutrophile Granulozyten, die schnell emigrieren. Ein nächster Leukozyt ist schon schattenhaft zu erkennen. Er emigriert an derselben Stelle. In der unteren Emigrationsstelle bleibt ein Erythrozyt hängen und ragt dabei ein Stück ins Gewebe.

Von mehreren festsitzenden Leukozyten emigriert ein eosinophiler Granulozyt. Er wandert im Gewebe schnell weiter und umfließt dabei bereits emigrierte Leukozyten.

Phagozytose

Normalerweise findet die Phagozytose im Gewebe statt. Sie wird hier im Blut gezeigt. Der neutrophile Granulozyt hat eine Bakterienkette in sich aufgenommen. Nach der Phagozytose ist er in seiner Wanderung gehemmt. Um das phagozytierte Bakterium entstehen langsam Vakuolen, die ein Zeichen beginnender Verdauung sind.

Auch eosinophile Granulozyten phagozytieren. Nach Aufnahme der großen Bakterien kann sich die Zelle nur noch wenig am Ort bewegen.

Monozyten umfließen die Bakterien zuerst mit großen, zarten Pseudopodien. Der Zellkörper wird dann nachgezogen. Besonders deutlich sieht man dabei, wie stark der Kern verformt werden kann.

Auf Bakterienagglomerate, die von einzelnen Leukozyten nicht mehr bewältigt werden können, wandern rasch von allen Seiten Granulozyten zu. Am Rand des Bakterienhaufens breiten sie sich flach aus und bilden einen Leukozytenwall, in dem die Bakterien wie eingemauert liegen.

Degeneration

Im Blut findet man vereinzelt auch Abbauformen der Leukozyten. Der Verlauf der Degeneration läßt sich im Deckglaspräparat gut verfolgen. Absterbende Zellen bewegen sich nur noch am Ort. Die multiplen Cytoplasmaausläufer sind keine normalen Pseudopodien.

Haben auch die Bewegungen dieses eosinophilen Granulozyten aufgehört, beginnen massive Cytoplasma- und Kernveränderungen. Das Cytoplasma und die Granula laufen nach allen Seiten aus. Der Kern wird rund. Langsam entstehen perlschnurartige Gebilde, die in viele kleine Plasmainseln zerfallen. Die granulafreien Plasmainseln schwimmen im umgebenden Medium davon.

Die Granula sind jetzt randständig, der Kern ist homogendunkel. Im Endstadium der Degeneration hat sich der Kern aufgelöst.

Bei Monozyten lassen die schleierartigen Cytoplasmabewegungen am Zellrand nach. Neben groben Granula sind viele Vakuolen im Cytoplasma.

Auch hier beginnen das Cytoplasma und die Granula nach allen Seiten auszulaufen. Neben dem länglichen Kern hebt sich in der Zellmitte — anstelle des Cytozentrums — ein heller, runder Bezirk ab, der an dem regen Zellgeschehen nicht beteiligt ist. Während die Cytoplasmaausläufer länger werden, rundet sich der Kern. Jetzt beginnt der helle Bezirk des Cytozentrums zu schrumpfen und wird dunkler.

Das gesamte Cytoplasma des Monozyten ist in lange, dünne Plasmafäden zerlaufen. Der Kern liegt frei und sieht Erythrozyten ähnlich.

Lymphozyten degenerieren in anderer Weise und zu einem späteren Zeitpunkt. Grobe Granula und sich verdichtende Kernstrukturen behindern die Wanderung noch nicht.

Die groben Granula sind jetzt verklumpt, die Kerninnenstrukturen noch dichter geworden. Die Zelle kann sich nur noch am Ort bewegen.

Im Endstadium ist das Cytoplasma hell, der Kern dunkel und geschrumpft.

Lymphozyten haben keine degenerativen Cytoplasmaausläufer.

English Version of the Spoken Commentary¹

Erythrozyten

In the ramified vessels of the frog mesentery one can easily trace the blood flow.

At high velocity of the blood stream, the single erythrocytes are not distinguishable. Their high flexibility can be seen when they get caught at the vessel bifurcations.

In the preparation of living human erythrocytes functioning as carriers of haemoglobin one can see intracellular flaring motions.

When the light falls diagonally, the plastic form of the erythrocytes is visible. They lack nuclei and are indented at the centre.

Thrombozyten

The arrow points to the thrombocytes — the smallest blood elements. When they disintegrate they induce blood co-agulation. The actual process of blood co-agulation is shown in the following time-lapse pictures of the isolated thrombocytes.

The delicate, undulating hyalomer can easily be distinguished from the central granulomer. The granulomer is composed of small, dense granules, which after the spread of the thrombocytes are found to be distributed in the hyalomer. Out of the disintegrated granulomer come the first fibrin fibres.

As time goes on more fibres form. They grow bigger and ramify.

Finally an extensive net of delicate fibrin is being formed.

In the process of blood co-agulation, the red and white blood corpuscles are being caught in these fibrin nets.

¹ The headlines in *italics* corresponds with the subtitles in the film.

Leukozyten

The phase contrast microscope makes, especially in the large leukocytes of the frog, the structure and the dynamic of the cells visible. Here is a young neutrophil granulocyte.

At the centre of the cell lies the cytocentrum. It is composed of a centrosome representing a small, pale, granule-free area and the centrosphere formed by radially arranged granules about the centrosome.

Eosinophilic granulocytes also show a cytocentrum near the nuclei. The centrosome is full of minute granules. However, the radial arrangement of the granules in the centrosphere cannot be seen distinctly.

Especially noticeable in the monocytes is the delicate veil-like floating of their marginal cytoplasm. This can serve as a differential diagnosis for monocytes. During pinocytosis, the so-called cytoplasm veils of the monocytes float around parts of the blood plasma absorbing it into the cell interior. The indentation of the nucleus contains the cytocentrum. The centrosphere consists of dustlike delicate granules.

Directed towards the cell stream of the neutrophilic granulocyte emerges a granule-free pseudopodium, into which granules then break. The cell-body follows.

On fixed and stained preparations human neutrophilic granulocytes are not easily distinguishable. Neither do they exhibit any special arrangement.

In this vital preparation under the phase-contrast microscope nuclear structures are more readily visible. Even in the resting cells one can distinguish the cytocentrum through the motions of the granules. From the kind and form of the motions new differential possibilities present themselves. Frontally the neutrophilic granulocytes show a clear and smooth cytoplasm ring followed first by the cytocentrum with its granules and then by nuclear segments. Attached to the neutrophilic granulocytes is a small terminal body.

A smear of an eosinophilic granulocyte showing its typical large granules. Only in vital preparations and by means of a phase-contrast microscope are the small granules also made visible next to the specific large ones.

The eosinophilic granulocytes move relatively slowly and sluggishly. — The cytocentrum also remains in existence during a change of cell direction. — The terminal bodies do not occur here very frequently.

Noteworthy for the basophilic granulocytes are their irregular, bulky granules overlapping the nucleus. The cell membranes on a smear are mostly of irregular shape.

At rest the living basophilic granulocytes are round. The large granules do not entirely cover the thick segmented structures of the nucleus.

In cells in motion one can see the irregularly segmented nucleus more distinctly, following the fringed, granule-free cytoplasm. The granules always lie behind the nucleus.

On a smear preparation the monocyte seldom exhibits granules. Its cell membrane is smooth.

On a vital preparation one can distinguish a great number of minute granules forming a cytocentrum in the indentation of the nucleus. The marginal

cytoplasm is noticeable for its delicate movements by means of which blood plasma is absorbed into the cell-body, forming clear vacuoles.

The monocytes move rarely, and then only for short distances. They do not show any strongly pronounced migration form.

Dense nuclei surrounded by narrow cytoplasm rings are typical of lymphocytes seen on a smear preparation.

Some nuclei of living lymphocytes at rest are round. Others again are indented. In the indentation of the nucleus lies the centrosome, towards which rod-like granules are streaming. The cytoplasm shows a weak motion.

During migration the lymphocytes form a relatively large, irregularly-shaped pseudopodium. It is followed by the nucleus and later the granules which partially come to lie within the end corpuscle. This type of migration is typical of lymphocytes.

Peripherally to the erythrocytes within the axial stream of the mesenteric vessels of the frog, the leukocytes stand out as shining, round objects. At the top a small artery: below it the concomitant vein. The leukocytes are moving peripherally within the vein.

Emigration

A neutrophilic granulocyte prepared for emigration.—It is piercing itself with a plasma process into the wall of the vessel. More cytoplasm being pushed forward into the tissue.

Now the nuclear segments squeeze through.

While the remaining cytoplasm forces itself through the wall, the cell slowly stretches within the tissue.

The arrow shows two other neutrophilic granulocytes emigrating speedily. Here again one can already distinguish the outline of another leukocyte. It is emigrating towards the other one. Beneath the point of emigration an erythrocyte is caught projecting partially into the tissue.

From among numerous settled leukocytes an eosinophilic granulocyte is now emigrating.—Within the tissue it covers greater distances during migration, and encircles the leukocytes which have already emigrated.

Phagozytose

Normally phagocytosis takes place within the tissue, but here this process is demonstrated taking place in the blood.

The neutrophilic granulocyte has taken in chains of bacteria.—Phagocytosis inhibits its further migration.—Vacuoles forming slowly around the phagocytized bacterium as a sign of beginning digestion.

Eosinophilic granulocytes also phagocytize.

Following the ingestion of large bacteria the cell can only move a short distance from its location.

Monocytes encircle the bacteria at first with their large, delicate pseudopodia. Then the cell-body follows. Here one can distinctly see the extent of nucleus deformation. The left-over agglomerations of bacteria are being

surrounded by speedily approaching granulocytes.—On the edges of the bacterial clusters they form a wall of flatly outstretched leukocytes, within which the bacteria lie imprisoned.

Degeneration

Scattered about within the blood one finds leukocytes in various stages of degeneration. One can easily trace the degenerative process on a cover-glass smear preparation. The dying cells can now move only on the spot. The multiple protoplasmic processes cannot be considered as normal pseudopodia. As soon as movement stops in this eosinophilic granulocyte massive changes come about in its cytoplasm and nucleus. The cytoplasm spreads and the granules are discharged in all directions. The nucleus grows round. Monilated forms slowly appear, and these break down into numerous small plasma islets. The granule-free plasma islets float away into the surroundings.

The granules now come to lie along the margin and the nucleus is homogeneously dark.

The final stage of degeneration is the break-down of the nucleus.

In the monocytes the veil-like cytoplasmic movements along their cell boundaries become weaker. Apart from the large granules there are numerous vacuoles within the cytoplasm. Here again the cytoplasm is beginning to flow out, setting the granules free. Right next to the elongated nucleus at the cell-centre a clear, round area (shown by the arrow) is brought into relief. It occupies the place of the cytocentrum and takes no part in the cell activity.

While the cytoplasmic processes elongate the nucleus becomes rounded. The clear area of the cytocentrum now begins to shrink and darken.

The whole cytoplasm of the monocytes changes into long, thin plasma fibres. The nucleus is now devoid of cytoplasm and resembles an erythrocyte.

Lymphocytes degenerate after a longer period and in a different way. The gradually increasing density of the nucleus and the coarse-grained granules do not as yet impair cell migration. Only when the large granules are lumped together and the nucleal chromatin is still denser is cell movement limited to one and the same spot.

The final stage shows clear cytoplasm and a dark, shrunken nucleus. Lymphocytes do not form degenerative cytoplasmic processes.

Literatur und Filmveröffentlichungen

- [1] COHNHEIM, J.: Über Entzündung und Eiterung. Arch. path. Anat. 40 (1867). 1—79.
- [2] EHRICH, W. E.: Die Entzündung. Handb. Allg. Pathol. Bd. 7 Reaktionen. S. 1—324. Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg 1956.
- [3] EHRLICH, P.: Methodologische Beiträge zur Physiologie und Pathologie der verschiedenen Formen der Leukozyten. Zschr. f. klin. Med. 1 (1880), 553—560.

- [4] ENGEL, H.-J.: Vergleichende Darstellung überlebender weißer Blutzellen des Menschen mit den gebräuchlichsten mikroskopischen Durchlichtverfahren. Res. Film 7, 5. 1972.
- [5] LAVDOWSKY, M.: Mikroskopische Untersuchungen einiger Lebensvorgänge des Blutes. Arch. path. Anat. 47 (1885), 177—210.
- [6] SCHKLAREWSKY, A.: Über das Blut und die Suspensionsflüssigkeiten. Arch. f. ges. Physiol. 1 (1868). 603—644.
- [7] SCHULTZE, M.: Ein heizbarer Objektisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. Arch. mikr. Anat. 1 (1865). 1—42.
- [8] TANNENBERG, J.: Die Leukozytenauswanderung und die Diapedese der roten Blutkörperchen. Frankf. Z. Path. 31 (1925). 351—384.
- [9] WESTPHAL, U.: Eine Überprüfung des Cohnheimschen Entzündungsversuches. Frankf. Z. Path. 30 (1924), 1—20.
- [10] WEIDENREICH, F.: Beiträge zur Kenntnis der granulierten Leukozyten. Arch. f. mikr. Anat. 72 (1908), 209—319.
- [11] ZERNIKE, F.: Das Phasenkontrastverfahren bei der mikroskopischen Beobachtung. Z. techn. Phys. 16 (1936), 454—457.
-
- [12] DUNKER, E.: Kapillare Blutgefäße an Körper- und Organoberflächen. Film C 742 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1957.
- [13] ENGEL, H.-J., und REGINA SCHÜTZ: Darstellung mikroskopischer Durchlichtverfahren am Beispiel überlebender Blutzellen. Film D 1099 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1972.
- [14] NAUMANN, H. H.: Die terminale Strombahn. Film C 887 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1965.
- [15] TANNENBERG, J.: Kreislauf und Leukozytenauswanderung im gefäßhaltigen Granulationsgewebe des lebenden Kaninchens. Unveröffentlichter Film. Kopie im Archiv des Inst. Wiss. Film, Göttingen.

Angaben zum Film

Der Film wurde 1962 veröffentlicht und ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt. Tonfilm, 16 mm, schwarzweiß, 180 m, 16 1/2 min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1961. Veröffentlichung aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin, Priv.-Doz. Dr. H.-J. ENGEL, REGINA SCHÜTZ, Dr. E. ZERBST, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. K.-H. HÖFLING; Aufnahme und Schnitt: H. H. HEUNERT.

Inhalt des Films

Der Film dokumentiert die Emigration von Leukozyten aus dem Blut in den perivaskulären Raum. Das Geschehen wird im Hellfeld-Durchlicht-Mikroskop in den kleinen Venen der mesenterialen Strombahn des Frosches verfolgt.

Die weitere Beobachtung der Blutzellen erfolgt im Deckglaspräparat mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens. Es zeigt sich, daß der Phasenkontrast

in den überlebenden, ungefärbten Zellen mehr Strukturen sichtbar macht. Insbesondere in den großen Leukozyten des Frosches ist der Zentralapparat gut zu studieren.

An den verschiedenen Leukozytenarten des Menschen werden die stadienartige Entwicklung der Zellbewegung, die Phagozytose und die Degeneration untersucht.

Die Form der Erythrozyten wird vergleichsweise mit schiefer Hellfeld-Beleuchtung dargestellt.

An isolierten und kurzfristig stabilisierten Thrombozyten werden deren morphologische Veränderungen während der Gerinnung und die Fibrinnetzbildung verfolgt.

Summary of the Film

The film shows the emigration of leucocytes from the blood into the perivascular space. The process is followed in the small veins of the mesenteric vascular system of the frog under the bright-field transmitted light microscope.

Further observation of the blood cells is carried out with the cover-glass preparation using the phase contrast method. It is shown that the phase contrast renders more structures visible in the surviving unstained cells. The central apparatus of the large leucocytes in the frog is particularly easy to study.

The phase-like development of cell movement, phagocytosis and degeneration are examined in the different types of human leucocyte.

The shape of the erythrocytes is presented with inclined bright field illumination for purposes of comparison.

Morphological changes during clotting and formation of fibrin network are followed in isolated and temporarily stabilised thrombocytes.

Résumé du Film

Le film rend compte de la migration des leucocytes du sang dans les espaces périvasculaires. Ce processus est suivi à l'examen au microscope optique en fond clair au niveau des petites veines du réseau vasculaire mésentérique de la grenouille.

L'observation ultérieure des cellules sanguines fait appel à une préparation sous lamelle, à l'aide d'un procédé à contraste de phase. Il s'avère que le contraste de phase rend davantage compte des structures au niveau des cellules survivantes, non colorées. L'appareil central peut être notamment bien étudié au niveau des gros leucocytes de la grenouille.

L'évolution en plusieurs stades du mouvement cellulaire, la phagozytose et la dégénérescence sont étudiées à partir des divers types de leucocytes humains.

La forme des érythrocytes peut être représentée à titre comparatif en recourant à un éclairage oblique en fond clair.

Il est possible, à partir de thrombocytes isolés et stabilisés pour une brève durée, de suivre les modifications morphologiques de ces cellules au cours des processus de coagulation et de formation du réseau de fibrine.