

Thema: Blut- ein ganz besonderer Saft (O. Ammerpohl, Kiel)

Das Blut ist eine Suspension, die zu etwa 55% aus dem Plasma (Plasma besteht u.a. aus Wasser, Proteinen, Salzen etc.) und zu etwa 45% aus Blutzellen besteht. Bei den Blutzellen unterscheidet man grob zwischen den Erythrozyten, den Leukozyten sowie den Thrombozyten.

Die **Erythrozyten** (*rote Blutkörperchen*) machen die Großzahl der Blutzellen aus. Sie dienen dem Transport von Sauerstoff von den Lungen in die Gewebe bzw. von Kohlendioxid aus den Geweben zu den Lungen. Der in den Erythrozyten vorkommende rote Blutfarbstoff Hämoglobin verleiht dem Blut der Wirbeltiere seine charakteristische Farbe. Die differenzierten Erythrozyten der Säugetiere besitzen keinen Nukleus (er wird während der Zelldifferenzierung abgebaut). Pro Tag werden im Knochenmark etwa 200 Mrd. Erythrozyten gebildet. Im Blut befinden sich etwa 4-5,5 Mio. Erythrozyten pro Mikroliter ($1\mu\text{l} = 1/1.000.000 \text{ Liter}$).

Die **Thrombozyten** sind mit etwa 150.000-400.000 Zellen/ μl der zweithäufigste Zelltyp. Die Thrombozyten sind für die Blutgerinnung „zuständig“.

Den **Leukozyten** (*weiße Blutkörperchen*) gehören die Zellen des Immunsystems an. Im Blut des Menschen kommen etwa 4.500-8.000 Leukozyten/ μl vor. Die im Blutstrom patrouillierenden Leukozyten gehören im Wesentlichen zu den Granulozyten (3.200-6.700/ μl), den Lymphocyten (1.500-3.000/ μl) und etwas seltener zu den Monozyten (40-630/ μl). Dabei werden bei den Granulozyten entsprechend ihrer Anfärbbarkeit die neutrophilen Granulozyten (u.a. Abwehr von Bakterien), die eosinophilen Granulozyten (u.a. Abwehr von Parasiten) sowie die basophilen Granulozyten (u.a. Ausschüttung von Mediatoren) unterschieden. Die Lymphocyten werden weiter differenziert in die B-Zell- und die T-Zell- Lymphocyten. Erstere sind überwiegend mit der Herstellung spezifischer Antikörper befasst, während letztere entweder die Immunantwort regulieren (CD4-Helferzellen, Treg-Zellen) oder auch andere Zellen (infizierte oder entartete Zellen) abtöten können (CD8-Zellen). Die Monozyten sind die Vorläufer der Makrophagen der Gewebe.

Darüber hinaus gibt es noch eine Reihe weiterer Immunzellen (Mastzellen, (reife) dendritische Zellen), die aber im normalen Blutbild selten vorkommen.

Anfertigung eines einfachen Blutausriches:

1) Blutausrich:

- 1) Objektträger vorbereiten (fettfrei, 2 OT pro Blutropfen), Pflaster bereitlegen
- 2) Lanzette vorbereiten (Verpackung hinten anreißen, Spitze nicht berühren)
- 3) Finger (Ringfinger) desinfizieren (70-80% Ethanol, lufttrocken)
- 4) Lanzette entnehmen ohne desinfizierten Finger zu nutzen
- 5) Finger „anpiksen“
- 6) Blutropfen auf OT überführen (ca. 1,5 cm vom Rand entfernt)
- 7) Tropfen austreichen: Zweiten OT 45° auf den ersten setzen, mit dem spitzen Winkel den Blutropfen von hinten „aufnehmen“ und anschließend gleichmäßig durch verschieben des OTs über den ersten OT verteilen.

- 8) Ggf. Pflaster nutzen
- 9) Ausstrich lufttrocknen lassen

2) Pappenheim- Färbung (May-Grünwald-Giemsa Färbung)

Lösungen:

- a. Phosphatpuffer nach Sörensen (0,1M; pH = 6,8 bis 7,0)
- b. May-Grünwald-Gebrauchslösung: Stammlösung 1:2 mit Puffer verdünnen, Lösung filtrieren.
- c. Giemsa-Gebrauchslösung: Stammlösung 1:10 mit Puffer verdünnen, Lösung filtrieren.

Durchführung:

- 1) Luftgetrocknete Präparate in Methanol stellen 5–10 min
- 2) May-Grünwald-Gebrauchslösung (5–) 8 min
- 3) Farblösung vom Objektträger abfließen lassen
- 4) Giemsa-Gebrauchslösung 10-11 min
- 5) mit Puffer gründlich spülen
- 6) Präparate gut trocknen lassen und ggf. in Kunstharz eindecken

Ergebnis:

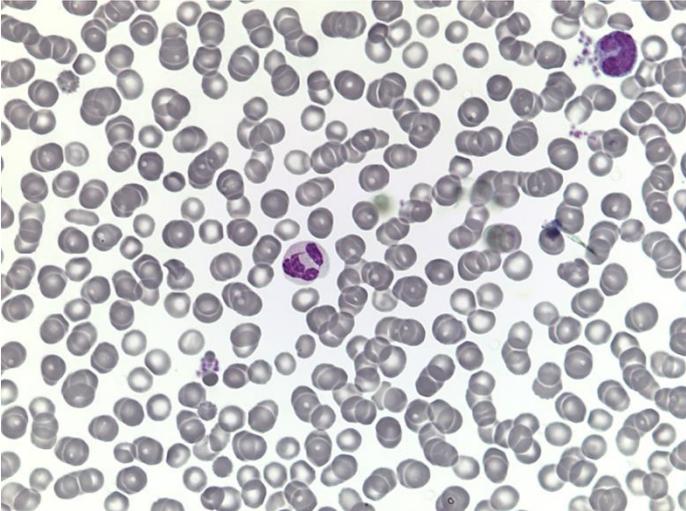
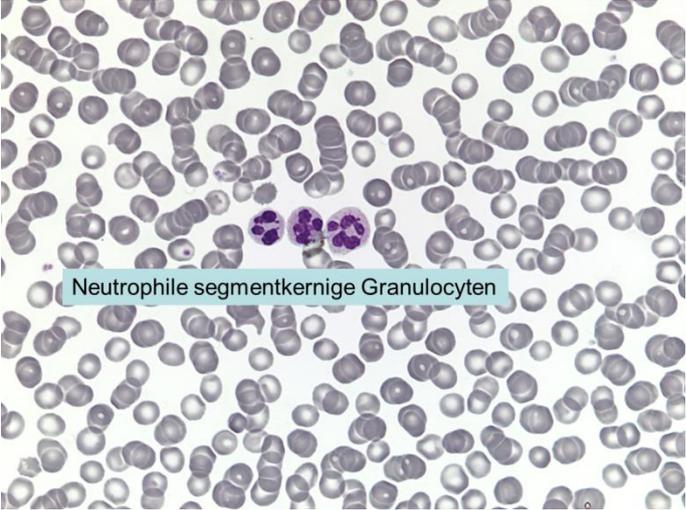
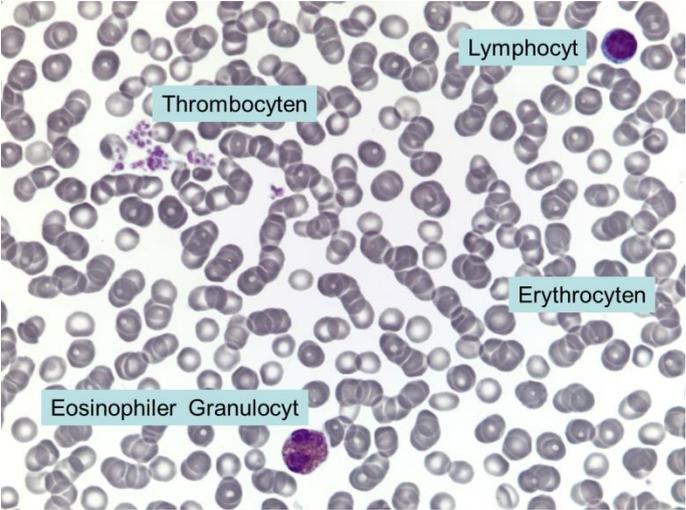
- | | |
|-------------------------------|---------------------------------|
| ➤ Erythrocyten: | blaß-rosa |
| ➤ Kerne der Leukocyten: | dunkel rötlich bis blau-violett |
| ➤ Cytoplasma der Monocyten: | blau bis grau-blau |
| ➤ Cytoplasma der Lymphocyten: | blau |
| ➤ Neutrophile Granula: | hell violett/rosa |
| ➤ Eosinophile Granula: | ziegelrot bis orange |
| ➤ Basophile Granula: | dunkel violett/blau |

Literatur:

- Lothar Rink, Andrea Kruse, Hajo Haase: Immunologie für Einsteiger. Springer 2015
- Torsten Haferlach, Ulrike Bacher, Harald Klaus Thiel, Heinz Diem: Taschenatlas Hämatologie. Thieme 2012
- Mathias Freund: Praktikum der mikroskopischen Hämatologie. Urban & Fischer 2008
- Maria Mulisch, Ulrich Welsch: Romeis - Mikroskopische Technik. Springer 2015

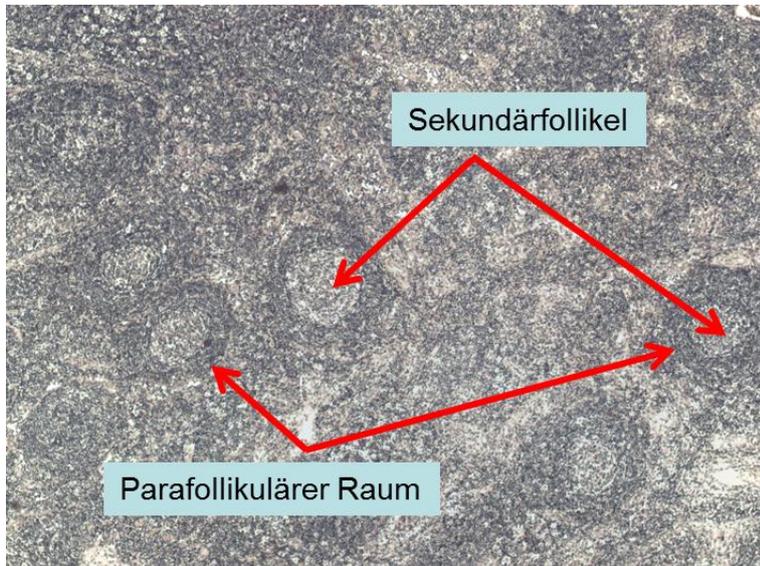
Einige Beispiele:

Alle Abbildungen: Ausstrich peripheres Blut aus Fingerkuppe, Färbung nach Pappenheim
Aufnahmen: Leica HCX PL Fluotar 63x/0.9



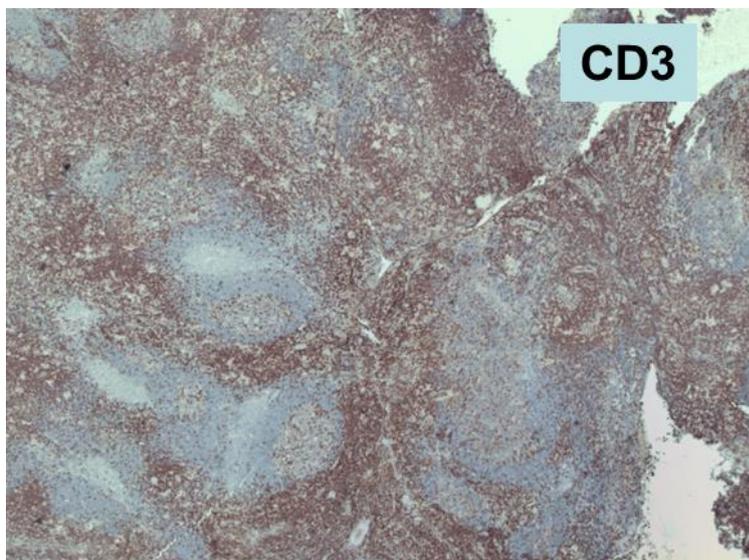
Wesentliche Teile der Immunreaktion gegen ein Antigen (d.h. einen Eindringling wie Bakterium, Parasiten oder Virus) spielt sich in den betroffenen Geweben und insbesondere den Lymphknoten ab.

In den lymphatischen Geweben (z.B. den Lymphknoten) findet die Differenzierung der naiven B- und T-Zellen in Plasma- oder Effektorzellen statt. Dieser Prozess wird u.a. durch gezielte Kontakte zwischen spezialisierten Zellen gesteuert, wobei die unterschiedlichen Zelltypen hier auch räumlich getrennt sind:

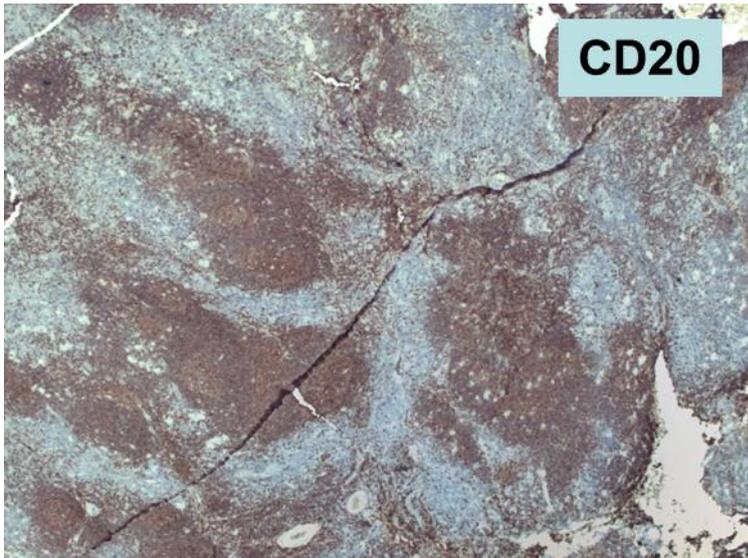


Schnitt durch einen menschlichen Lymphknoten. Die Sekundärfollikel sind erkennbar (Hämalaun-Färbung, Leica N Plan 2.5x/ 0.07).

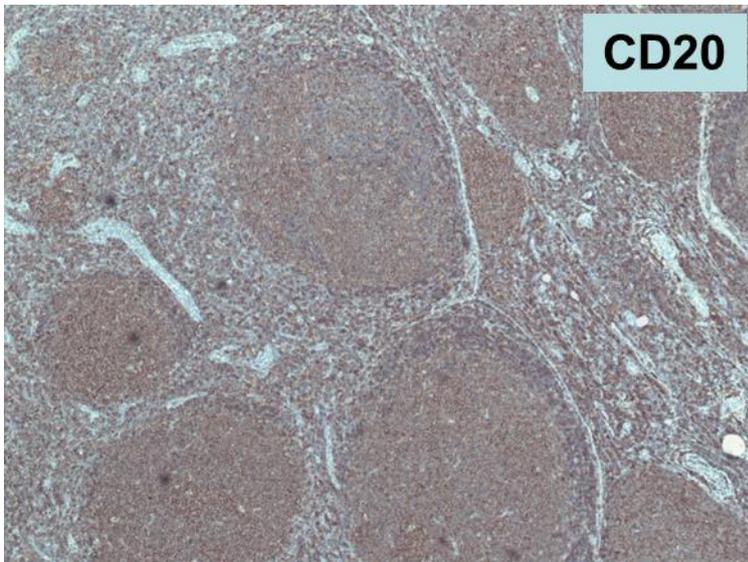
Da die verschiedenen Immunzellen in Abhängigkeit ihres Differenzierungsgrades unterschiedliche Proteine exprimieren (Cluster of differentiation; CD), können sie im Schnittpräparat spezifisch immunhistochemisch angefärbt werden. In den folgenden Präparaten durch einen Lymphknoten sind die jeweils für das ausgewählte Markerprotein positiven Zellen braun angefärbt, negative Zellen erscheinen bläulich (Hämatoxylin-Färbung).



CD3 ist ein Marker für T-Lymphozyten (Leica N Plan 2.5x/ 0.07).



CD20 ist ein Marker für B-Lymphozyten. Die Aufenthaltsorte der CD3-positiven und CD20-positiven Zellen schließen sich jeweils aus (Leica N Plan 2.5x/ 0.07).



Bei diesem **Schnitt durch den Lymphknoten eines Patienten mit einem Follikulären Lymphom** (ein maligner Tumor) sind die CD20-positiven Zellen im gesamten Schnitt lokalisiert, die normale Struktur ist gestört (Leica N Plan 2.5x/ 0.07).

Der Dank des Verfassers gilt Herrn Prof. Dr. W. Klapper, Kiel, der die Schnittpräparate der Lymphknoten zur Verfügung gestellt hat.

Alle gezeigten Abbildungen stammen vom Verfasser.