

NOMOGRAMME ZUR BERECHNUNG DES KERNVOLUMENS

J. FISCHER und G. INKE

(Eingegangen am 1. März, 1956)

Die Bedeutung der quantitativen histologischen Verfahren, u. a. der statistischen Kernvariationsuntersuchungen, in der funktionellen Morphologie nimmt immer mehr zu. Für unsere Untersuchungen über die Methodik der Kernvariation (INKE, PALKOVITS, BAJTAI, GYÁRFÁS, im Druck), bei denen wir u. a. den praktischen Wert der in der Literatur gebräuchlichen Volumenberechnungsmethoden verglichen, benötigten wir die tabellarischen oder sonstigen Angaben sämtlicher bekannten Methoden, aus denen das Kernvolumen leicht, mit wenigen Rechenoperationen berechnet werden kann.

Wir fanden nur zwei derartige Tabellen (ARNOLD [1] und VOSS [11]), die aber auch schwer zu handhaben sind. ARNOLD gibt in seiner Tabelle das Kernvolumen in Kubikmikron-Werten an; der Kern wird als Rotationsellipsoid betrachtet, und die Durchmesser sind nicht in Millimeter, sondern in Mikron angeführt. Ihr Gebrauch ist aus mehreren Gründen umständlich: 1. Der wirkliche Mikronwert ist aus dem mm-Wert des Durchmessers durch Teilung mit dem tausendsten Teil des Vergrößerungsgrades zu errechnen. 2. Da zur entsprechenden Klassifizierung sowohl der biologischen wie der statistischen Anforderungen nur die Logarithmen der erhaltenen Volumen benutzt werden können (HINTZSCHE [5]), muss aus diesen ein Logarithmus gesucht werden. Die Tabelle von VOSS, der den Kern als Kugel voraussetzt, gibt das Volumen aus der planimetrierten Fläche in Kubikzentimeter an. Hieraus lässt sich der Kubikmikronwert unter Berücksichtigung des Vergrößerungsgrades durch Multiplikation mit dem Wert $\frac{10^3}{n^3}$ gewinnen.* Der Logarithmus des eben erwähnten Multiplikationsfaktors muss ebenfalls herausgesucht werden. Für die in der Literatur vorkommenden anderen Formeln haben wir nicht einmal derartige Tabellen gefunden.

Diese Sachlage machte die Ausarbeitung eines Hilfsmittels erforderlich, mit dem in wenigen Operationen, präzise gearbeitet werden kann. Bei weniger

*1 cm = 10 000 Mikron = 10^4 Mikron. $1 \text{ cm}^3 = 10^{12} \text{ Mikron}^3$ Vergrößerungsgrad =
 $n \cdot 1000 = n \cdot 10^3$. Dritte Potenz des Vergrößerungsgrades $n^3 \cdot 10^9 \frac{10^{12}}{n^3 \cdot 10^9} = \frac{10^3}{n^3}$

Operationen sind die Fehlermöglichkeiten geringer (z. B. multiplizieren wir nicht mit Abrundungsfehler belastete Daten), bei Vereinfachung der mathematischen Arbeit kommen weniger Irrtümer (Schreibfehler usw.) vor. Wir hatten also gleichzeitig auch die Absicht, die Resultate genauer und zuverlässiger zu gestalten.

Ein derartiges Hilfsmittel ist das Nomogramm. Als Nomogramm bezeichnen wir eine Figur, von der sich die zueinander gehörigen Werte einzelner Variablen eines gegebenen polyvariablen funktionellen Zusammenhanges ablesen lassen. Wir kennen Fluchtlinien- und Punktlinien-Nomogramme und solche, die aus der Kombination der beiden bestehen.

Bei der Konstruktion der Nomogramme hatten wir zwei Ziele vor Augen: 1. Das Nomogramm sei einfach zu behandeln und leicht ablesbar; 2. bei seinem Gebrauch sollten vorherige und nachträgliche Berechnungen — bei denen sich Irrtumsmöglichkeiten ergeben — in möglichst geringer Zahl erforderlich sein. Zur Erreichung dieser Ziele berücksichtigten wir folgende praktische Gesichtspunkte:

1. *Die Untersuchungsmethode.* Kernvariationsuntersuchungen lassen sich auf verschiedene Weise vornehmen. Nach Literaturangaben, Besprechungen mit den sich mit diesem Thema beschäftigenden ungarischen Forschern ist die Projektionsmethode am meisten verbreitet und nach eigenen Erfahrungen am genauesten. Der Untersucher projiziert das mikroskopische Bild bei gegebener Vergrößerung und markiert das Gebiet des Kernschnittes. Entweder wird der Durchmesser der markierten Kernschnitte in mm oder ihre Fläche in cm^2 gemessen. Auch die Okular-Mikrometermessung wird benutzt, die viel umständlicher, weniger genau und ermüdender ist. CASPERSSON [4] und SANDRITTER [10] arbeiten mit der mikroplanimetrischen Methode. DONTVILLE [2] projiziert das Bild auf ein Papier von gleichmässiger Stärke, schneidet das Bild des Kernschnittes heraus und wiegt sein Gewicht ab.

2. *Der Vergrößerungsgrad.* Die bei der Projektion benutzten Vergrößerungen liegen meistens zwischen 1000fach und 3000fach. Von diesen werden wohl die 2000fache und 3000fache Vergrößerung am häufigsten verwendet. Infolgedessen konstruierten wir unsere Nomogramme für 2000fache und 3000fache Vergrößerung, da die mit Projektion arbeitenden Untersucher diese am einfachsten zu benutzen vermögen. Es sei bemerkt, dass — mit Ausnahme der Dontvilleschen Methode — auch die mit anderen Methoden und Vergrößerungen arbeitenden Forscher unsere Nomogramme nach der später mitgeteilten Anleitung verwenden können.

Charakterisierung der Nomogramme

In den Formeln wurden von uns folgende Bezeichnungen benutzt:

L (longus) = der längste Durchmesser des Ellipsenschnittes, das Doppelte der grossen Achse.

B (brevis) = der kürzeste Durchmesser (die senkrechte Halbierende von L), das Doppelte der kleinen Achse.

F = "Fläche", der Flächeninhalt des Ellipsenschnittes.

A (axis) = Drehungsachse (für Rotationsellipsoid).

P (perpendicularis) = senkrechter Durchmesser zur Drehungsachse (des Rotationsellipsoids).

C = dritter, Tiefendurchmesser (bei dreiachsigem Ellipsoid).

D (Diameter) = Durchmesser (bei einer Kugel).

logD = Logarithmus von D auf Basis 10.

V (Volumen) = Volumen (in allen Fällen).

logV = Logarithmus von V auf Basis 10.

Die Nomogramme sind mit einer Ausnahme Punktreihen. Die Träger der Punktreihen sind Geraden; bei jenen Nomogrammen, bei denen drei Veränderliche vorkommen (L, B, logV; A, P, logV; F, C, logV; F, A, logV), sind die beiden messbaren Veränderlichen am Rande des Nomogramms angeführt. Auf der einen Seite der Trägergeraden ist die der 2000fachen, auf der andern Seite die der 3000fachen Vergrößerung entsprechende Punktfolge angegeben. Bei denjenigen Nomogrammen, in denen zwei Veränderliche vorkommen ($L + B = 2D$, logV; F, logV), entspricht der 2000fachen bzw. 3000fachen Vergrößerung der messbaren Variablen jeweils eine gesonderte Trägergerade, während die logV-Werte zwischen die beiden eingezahnt sind. Die zueinander gehörenden Werte von D und logD, V und logV sind (auf eine Kugel transformiert) auf besonderem Nomogramm dargestellt. Zwecks Erhöhung ihrer Genauigkeit mussten wir unsere Nomogramme in 2 bzw. 3 Teile zergliedern. Bei der Zergliederung wurden die einzelnen Nomogrammabschnitte um soviel verlängert, dass die zueinander gehörenden Durchmesserpaare auf einem Nomogrammabschnitt stets anzutreffen sind, wenn B/L zwischen 0,4 und 1 fällt. Die Messungsgrenzen der Nomogramme sind 1 und 10 000 Kubikmikron. Die obere Grenzen haben wir so hoch festgesetzt, damit unsere Nomogramme auch zur Messung des kubischen Inhalts der Zelle benutzt werden können.

Beschreibung der Nomogramme

Als linear bezeichnen wir die Formeln, bei denen die gemessenen Werte Durchmesser sind, als planimetrisch jene, in denen die gemessenen Werte eine Fläche darstellen, und als kombiniert diejenigen, mit denen sowohl Durchmesser wie Fläche gemessen werden.

A) Zur Messung des Kugelvolumens sind folgende Formeln geeignet;

$$1. \text{ Lineare Formel; a) } V = \frac{4}{3} \pi r^3 = \frac{\pi D^3}{6}$$

JACOBJ [6] benutzte bei Kernen mit einer um 14% kleineren Durchmesser-differenz folgende Formel: $V = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{l+k}{2} \right)^3$

Mit l bezeichnete er die grössere Achse, mit k die kleinere. Diese Formel wurde von uns der besseren Benutzbarkeit halber folgendermassen umgestaltet: $\frac{\pi}{48} (L+B)^3$. Diesen Zusammenhang veranschaulicht das 1. Nomogramm. Diese Umgestaltung erscheint praktischer, weil es nicht nötig ist, die Summe der beiden Durchmesserwerte durch 2 zu dividieren, sondern die beiden Durchmesser lediglich im Kopf addiert werden müssen. Falls die beiden Durchmesser gleich sind bzw. der Kern als Kugel zu betrachten ist und nur ein Durchmesser gemessen wird, müssen wir das Volumen beim doppelten Wert dieses Durchmessers suchen. (Man kann auch beim einfachen Wert ablesen und am Ende der Untersuchung einen Korrektionsfaktor anwenden; s. später.)

$$b) V = \frac{\pi}{6} (LB)^{3/2}$$

Dieser Zusammenhang findet sich auf dem Nomogramm Nr. 2 und ergibt das Volumen der Kugel mit dem dem geometrischen Mittel der zwei gemessenen Durchmesser entsprechenden Durchmesser. Bestimmen wir das Volumen einer Kugel aus den Planimeterwerten, müssen wir theoretisch ein mit dieser Formel übereinstimmendes Resultat erhalten. Die Fehlerquellen des planimetrischen Verfahrens sind geringer, das Durchmesser-Verfahren ist jedoch rascher und einfacher durchführbar, weist aber grössere Messungsfehler auf. In der Praxis gewinnen wir jedoch mit dieser Formel Angaben, die mit dem Ergebnis der planimetrischen Messung gut übereinstimmen.

$$2. \text{ Planimetrische Formel; } V = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{F}{\pi} \right)^{3/2} \quad (\text{Voss, 11}).$$

Diesen Zusammenhang stellt das Nomogramm Nr. 3 dar. Vom Planimeter lassen sich die Werte in 0,10 cm² ablesen, bei zwei Messungen können die Mittelwerte auch Resultate von 0,05 cm² ergeben, weshalb die Bezeichnung der Tragleiste entsprechend gestaltet ist. Bei höheren Werten besteht nur eine Bezeichnung von 0,1, die dazwischen liegenden Werte lassen sich schätzen.

Insbesondere bei kleineren Kernen oder Nukleolen empfiehlt sich die Anwendung der 3000fachen Vergrösserung, weil die Genauigkeit des Planimeters bei der Messung von kleineren Gebieten als 1 cm² unzureichend ist. Gegebenenfalls kann auch eine Nachvergrösserung notwendig werden, weshalb wir die Korrektionsfaktoren bis zur 6000fachen Vergrösserung angeben.*

B) Zur Messung des Volumens von Rotationsellipsoiden sind folgende Formeln geeignet;

*Liegt das Verhältnis B/L (die sog. numerische Exzentrizität des Ellipsenschnittes) über 0,8, ergeben die für Kugeln angeführten Formeln auch für das Ellipsoid ein annähernd richtiges Resultat.

1. *Lineare Formel.* a) $V = \frac{\pi}{6} AP^2.$

Die Drehungsachse kann der lange (L) oder kurze (B) Durchmesser des Ellipsoids sein. Im ersten Fall ergibt die Formel $V = \frac{\pi}{6} LB^2,$ im zweiten

Fall die Formel $V = \frac{\pi}{6} L^2B$ den Wert. (In der deutschen Literatur sind diese

Formeln folgendermassen angegeben : $V = \frac{4}{3} \pi lk^2$ oder $V = \frac{4}{3} \pi l^2k$ bzw.

$V = \frac{4}{3} \pi lb^2$ oder $V = \frac{4}{3} \pi l^2b).$

Stets ist der Wert der Drehungsachse von der Punktfolge A abzulesen. Lesen wir an der Punktfolge A einen langen Durchmesser ab, erhalten wir am 4. Nomogramm der ersten Formel entsprechende Resultate, lesen wir den kurzen ab, der zweiten Formel entsprechende.

b) *Kombinierte Formel.* PUFF [9] gelangte durch Vereinigung der linearen und planimetrischen Methode zu folgender Formel : $\frac{8}{3\pi} \frac{F^2}{A}$ (im Original lautet

die Formel $V = 0,8488 \frac{F^2}{L},$ doch gilt die gleiche Formel auch für ein Ellipsoid,

das mit Drehung um die kleine Achse gewonnen wird.) Diesen Zusammenhang weist das Nomogramm Nr. 5 auf. *Auf der Punktfolge A ist der Wert der Drehungsachse abzulesen.* Aus der theoretischen Ableitung MÖRIKES (8 ; Seite 92, Abb. 6) geht deutlich hervor, dass diese Formel auch bei grossen Durchmesserdifferenzen die der Wirklichkeit am nächsten kommenden Resultate ergibt, weshalb sie z. B. zur Messung von glatten Muskel- und Bindegewebskernen unserer Ansicht nach am geeignetsten ist. Bisher ist diese Formel in der Literatur von anderen als dem Autor kaum benutzt worden ; wahrscheinlich hält man diese Berechnungsmethode für allzu kompliziert.

c) *Allgemeine Formel zur Messung des dreiachsigen Ellipsoids.*

MICKLEWRIGHT, KURNICK u. HODES [7] wiesen durch sorgfältige Messungen nach, dass die Form der Spinalganglienzellen und vielleicht auch die der Kerne nicht dem Rotationsellipsoid, sondern dem dreiachsigen Ellipsoid entspricht.

Zu ihrer Volumenbestimmung empfehlen sie die Formel $\frac{2}{3} CF,$ deren Zusammenhänge im Nomogramm Nr. 6 wiedergegeben sind. Die Messung des Durchmessers C ist umständlich, jedoch durchführbar. CASPERSSON [3] vermag den Tiefendurchmesser mit Phasenlinsen und einem eingeschalteten Linsensystem mit 0,2 Mikron Genauigkeit zu messen. Die Formel ist jedoch zur Routinearbeit nicht geeignet und wird eigentlich nur der Vollständigkeit halber angeführt.

D) *Zum Suchen des numerischen Wertes der Volumen bzw. Durchmesser* dient das Nomogramm Nr. 7. Von diesem lassen sich von den logV-Werten

sowohl die V- wie die D- und die logD-Werte leicht in Mikron bzw. Kubikmikron ablesen. Letztere Werte stellten wir hauptsächlich für jene zusammen, die bei der statistischen Auswertung Rechnen mit den Durchmessern vorziehen.

$$\text{Da } V = \frac{\pi}{6} D^3 \text{ ist, entspricht } \log D = \frac{\log V - \log \frac{\pi}{6}}{3} = \frac{1}{3} \log V + 0,0937.$$

Wie hieraus ersichtlich, lässt sich die die Verteilung von logD darstellende Funktion durch Zusammendrücken aus der Funktion der logV-Verteilung auf ein Drittel und Verschiebung mit 0,0937 gewinnen; ist demnach logV von normaler Verteilung, wird dies auch logD sein, d. h. D ist von lognormaler Verteilung. Darum ist es nicht richtiger, mit logD zu rechnen als mit logV, aber unrichtiger mit D zu rechnen.

Das Ablesen der Nomogramme

Zum Ablesen wird am zweckmässigsten ein Lineal aus durchsichtigem Kunststoff (z. B. Plexiglas oder Zelluloid) verwendet. In das Lineal muss eine längsgerichtete Gerade eingeritzt werden. Die eingeritzte Linie ist zweckmässigerweise zu färben. Die Einritzung der Geraden geschieht am einfachsten mit dem Koordinatographen. Dies gewährleistet, dass die eingeritzte Linie wirklich *gerade* wird. Eine geringe Abweichung der Linie von der Geraden verursacht nur dann einen ständigen Fehler gleicher Richtung, wenn das Lineal stets in der gleichen Lage benutzt wird. Beim Gebrauch in verschiedener Lage wird die Richtung der Abweichung des Messungsfehlers nicht konstant, der Messungsfehler jedoch vorhanden sein. Wenn wir mit Hilfe des Nomogramms nach vorheriger Klassifikation gruppieren und dies nicht mit völlig gerader Linie tun, übertragen wir den Fehler einseitig auf viele hundert Fälle. Bei vorheriger Klasseneinteilung muss bei der Messung der Klassengrenzen stets das Ergebnis von mindestens drei Messungen verwendet und im Zweifelsfall gegebenenfalls auch nachgerechnet werden. Fällt irgendein Wert auf eine Grenze zwischen den Klassen, muss dieser zur Hälfte zwischen den beiden Klassen geteilt werden. Das Lineal ist in der auch auf jedem einzelnen Nomogramm angegebenen Weise auf den gemessenen Wert der beiden unabhängigen Veränderlichen zu legen. (Man achte darauf, dass die Ablesung bei der entsprechenden Vergrößerung erfolgt.) Das als Logarithmus angegebene Resultat lesen wir an dem von der Geraden aus der Ergebnisskala herausgeschnittenen Punkt mit zwei Dezimalziffern Genauigkeit ab. Mit einiger Praxis lässt sich auch die dritte Dezimalziffer gut schätzen. Bei der Behandlung des Lineals ist darauf zu achten, dass nach der Einstellung des einen Punktes, wenn wir das andere Ende auf

den zweiten Punkt legen, das Lineal sich vom ersten nicht wegbewegt. Die Einstellung soll man vor dem Ablesen stets nachprüfen. Das durchsichtige Lineal ist sehr vorteilhaft, weil auch die Werte über und unter der Ablesungsstelle deutlich zu sehen sind und dadurch das Ablesen rascher, leichter und genauer erfolgen kann.*

Unsere Nomogramme lassen sich auch bei der Berechnung des geometrischen Mittels vorteilhaft verwenden. In dieser Beziehung kann man mit den Nomogrammen auf zwei verschiedene Arten arbeiten: 1. *Jeder einzelne Wert lässt sich einzeln ablesen.* Dies ist ein sehr genaues Verfahren, und wenn eine Rechenmaschine zur Verfügung steht, eine rasche Methode. Bei der Teilung der Summe der Logarithmen mit n (n = Anzahl der Kerne) erhalten wir den Logarithmus des geometrischen Mittelwertes. Stets ist dieser anzuwenden, wenn wir um den geometrischen Mittelwert als »Regelklasse« lognormale Klasseneinteilung vornehmen wollen. 2. In Kenntnis der Mitte (Regelklasse) lässt sich aus den Nomogrammen die der Klasseneinteilung entsprechende Tabelle je nach Zellgrösse und Vergrößerung herstellen. In diesem Fall brauchen nicht mehr die $\log V$ -Werte der einzelnen Zellkerne gesondert abgelesen zu werden. In Kenntnis der Regelklasse und der Werte der Klassenausdehnung führen wir das Lineal am Nomogramm entlang, bestimmen von den zueinander gehörenden Durchmesserpaaren, in welche Klasse sie fallen, und geben diese in der Tabelle an. So lässt sich das Material durch einen Strich in die betreffende Klasse gruppieren. Zeitlich bedeutet das Verfahren einen Gewinn. Seine Genauigkeit ist jedoch geringer, da nur der gewogene Durchschnitt des Mittelwertes der einzelnen Gruppen damit errechnet werden kann. Die Strichmethode beansprucht grösste Aufmerksamkeit!

Der Gebrauch der Nomogramme bei anderen Vergrößerungen ; ihre Anwendung bei anderen als Projektionsverfahren ; Mittelwert- und Streuungsberechnung

Die Nomogramme lassen sich nicht nur bei der angegebenen 2000fachen und 3000fachen, sondern auch bei jeder beliebigen Vergrößerung benutzen. In diesem Fall bleibt bei der Ablesung unberücksichtigt, dass die tatsächliche Vergrößerung von der des Nomogramms abweicht, und die $\log V$ -Werte lesen wir in dieser Weise ab. Diese $\log V$ -Werte weichen von den wirklichen Werten ab. Das Ausmass der Abweichung hängt vom Verhältnis der beiden Vergrößerungen

*Die hier mitgeteilten Nomogramme sind Photokopien der Originale. Nach dem Einbinden der Zeitschrift lassen sie sich für Messungen bereits schwer verwenden. Am zweckmässigsten dürfte sein, sie zu photographieren und die Photokopien auf möglichst dicken Karton zu kleben, damit sie ganz glatt bleiben. Durch Zerknittern, Faltung und Knickungen wird die Genauigkeit der Ablesung vermindert. (Auf Wunsch stellt Interessenten das Forschungsinstitut für Mathematik der Ungarischen Akademie der Wissenschaften Photokopien der ursprünglichen Nomogramm-Serie auf speziellen Papier gegen Vergütung der Selbstkosten zur Verfügung.)

Tabelle I

Additive Korrektionskonstanten zu den Zellkern-Kubikgehalt-Nomogrammen

m	$\alpha_{m,2000}$	$\alpha_{m,3000}$	m	$\alpha_{m,2000}$	$\alpha_{m,3000}$	m	$\alpha_{m,2000}$	$\alpha_{m,3000}$
500	1,806	2,334	2350	-0,210	0,318	4200	-0,967	-0,438
550	1,682	2,210	2400	-0,238	0,291	4250	-0,982	-0,454
600	1,569	2,097	2450	-0,264	0,264	4300	-0,997	-0,469
650	1,464	1,993	2500	-0,291	0,238	4350	-1,012	-0,484
700	1,368	1,896	2550	-0,317	0,212	4400	-1,027	-0,499
750	1,278	1,806	2600	-0,342	0,186	4450	-1,042	-0,514
800	1,194	1,722	2650	-0,367	0,162	4500	-1,057	-0,528
850	1,115	1,643	2700	-0,391	0,137	4550	-1,071	-0,543
900	1,040	1,569	2750	-0,415	0,113	4600	-1,085	-0,557
950	0,970	1,498	2800	-0,438	0,090	4650	-1,099	-0,571
1000	0,903	1,431	2850	-0,461	0,067	4700	-1,113	-0,585
1050	0,840	1,368	2900	-0,484	0,044	4750	-1,127	-0,599
1100	0,779	1,307	2950	-0,506	0,022	4800	-1,141	-0,612
1150	0,721	1,249	3000	-0,528	0,000	4850	-1,155	-0,626
1200	0,666	1,194	3050	-0,550	-0,022	4900	-1,168	-0,639
1250	0,612	1,141	3100	-0,571	-0,043	4950	-1,181	-0,652
1300	0,561	1,090	3150	-0,592	-0,064	5000	-1,194	-0,666
1350	0,512	1,040	3200	-0,612	-0,084	5050	-1,207	-0,697
1400	0,465	0,993	3250	-0,633	-0,104	5100	-1,220	-0,691
1450	0,419	0,947	3300	-0,652	-0,124	5150	-1,232	-0,704
1500	0,375	0,903	3350	-0,672	-0,144	5200	-1,245	-0,717
1550	0,332	0,860	3400	-0,691	-0,163	5250	-1,257	-0,729
1600	0,291	0,819	3450	-0,710	-0,182	5300	-1,270	-0,741
1650	0,251	0,779	3500	-0,729	-0,201	5350	-1,282	-0,754
1700	0,212	0,740	3550	-0,748	-0,219	5400	-1,294	-0,766
1750	0,174	0,702	3600	-0,766	-0,238	5450	-1,306	-0,778
1800	0,137	0,666	3650	-0,784	-0,256	5500	-1,318	-0,790
1850	0,102	0,630	3700	-0,802	-0,273	5550	-1,330	-0,802
1900	0,067	0,595	3750	-0,819	-0,291	5600	-1,341	-0,813
1950	0,033	0,561	3800	-0,836	-0,308	5650	-1,353	-0,825
2000	0,000	0,528	3850	-0,853	-0,325	5700	-1,365	-0,836
2050	-0,032	0,496	3900	-0,870	-0,342	5750	-1,376	-0,848
2100	-0,064	0,465	3950	-0,887	-0,358	5800	-1,387	-0,859
2150	-0,094	0,434	4000	-0,903	-0,375	5850	-1,398	-0,870
2200	-0,124	0,404	4050	-0,919	-0,391	5900	-1,409	-0,881
2250	-0,153	0,375	4100	-0,935	-0,407	5950	-1,420	-0,892
2300	-0,182	0,346	4150	-0,951	-0,423	6000	-1,431	-0,903

ab. Bezeichnen wir die tatsächliche Vergrößerung mit m , hat der Korrektionsfaktor den Wert a , wenn wir von einer Punktlinie mit 2000facher Vergrößerung ablesen, ist $a_{m, 2000} = 3 (\log 2000 - \log m)$, beim Ablesen von der Punktlinie mit 3000facher Vergrößerung ist $a_{m, 3000} = 3 (\log 3000 - \log m)$. Auf Grund dieser Formel geben wir auf Tabelle I in 50er Sprüngen von der 500fachen bis zur 6000fachen Vergrößerung die Korrektionsfaktoren im Vergleich sowohl zur 2000fachen wie zur 3000fachen ursprünglichen Vergrößerung an. Falls der Untersucher nicht die Möglichkeit hat, mit den in den Nomogrammen angegebenen 2000fachen oder 3000fachen Vergrößerungen, noch mit irgendeiner der 50er zwischenstufigen Vergrößerungen zu arbeiten, kann er auf Grund der Formel den der eigenen Vergrößerung entsprechenden Korrektionsfaktor berechnen.

In Kenntnis der eigenen Vergrößerung und des Wertes der Regelklasse lässt sich entsprechend Punkt 2 des vorigen Abschnitts aus dem Nomogramm eine Tabelle herstellen, in der wir den mit der *tatsächlich* benutzten Vergrößerung gemessenen Durchmesserpaaren bereits die Logarithmen der mit Hilfe des Korrektionsfaktors errechneten *wirklichen* Klassenmittelwerte beordnen.

Bei der Berechnung des geometrischen Durchschnitts, d. h. des arithmetischen Durchschnitts der Logarithmen, ist es nicht erforderlich, den Korrektionsfaktor zu den abgelesenen $\log V$ -Werten einzeln zu addieren. Es genügt, diese zu addieren, durch n zu teilen und den Wert des Korrektionsfaktors zuzugeben.

Die Streuungsberechnung, ein auf den meisten Gebieten der Biometrie allgemein bekanntes und in der medizinischen Statistik gebräuchliches Verfahren, wird von den Zytologen wenig angewandt. Bei der statistischen Bewertung, insbesondere aber beim Vergleich der einzelnen Bewertungen ist es unbedingt erforderlich, die Streuung zu errechnen und mitzuteilen. Es ist nämlich nicht indifferent, ob die auf Grund der Messung gewonnenen Volumenwerte rings um den Mittelwert auf mehrere Klassen verstreut sind oder diese (gegebenenfalls) beinahe alle in seiner Nähe liegen. Die Streuung charakterisiert, wie auch aus dem Wort hervorgeht, gerade auch die auf diesem Gebiet in Erscheinung tretenden Differenzen und bietet so die Möglichkeit, auch die Zuverlässigkeit der Werte verschiedener Messungen bzw. Kerntypen zu schätzen, ferner auf einzelne Prozesse zu folgern; bei kompensierenden, vikariierenden Erscheinungen nimmt z. B. die Streuung zu.

Die auf Grund der Messungsergebnisse berechneten V -Werte folgen der lognormalen Verteilung. Wenn demnach $\log V$ der sowohl grundsätzlich wie auch praktisch leicht zu behandelnden *Gauss'schen* oder mit anderem Namen *normalen* Verteilung folgt, muss logischerweise auch die Streuung aus den $\log V$ -Werten berechnet werden. Die Berechnung des Streuungswertes lässt sich — ebenso wie die des Durchschnitts — naturgemäss unter Verwendung der genauen Werte sämtlicher Daten rasch und präzise vornehmen. Wenn wir mit Klassifikation arbeiten und unsere Klasseneinteilung nicht allzu grob ist, erhalten wir im allgemeinen auf Grund der Logarithmen der Klassenmitte eine gute Annäherung an die Streuung.

Die Formel der Streuung ist $s = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$; wenn wir über eine Rechenmaschine

oder Quadrattafel verfügen, ist es einfacher mit der Formel $s = \sqrt{\frac{(\sum x)^2 - \sum x^2}{n(n - 1)}}$ zu rechnen. Bei Benutzung der ersten Formel muss der Mittelwert sehr genau — mindestens um 1 Zahl genauer als bei den ursprünglichen Angaben — berechnet werden. In diesen Formeln bedeuten die x die einzelnen $\log V$ -Werte, $\sum x$ deren Summe, $(\sum x)^2$ das Quadrat der letzteren und $\sum x^2$ die Summe der Quadrate der $\log V$ -Werte, n die gemessenen Kerne (bzw. die Anzahl des

als Kern angesehen oder der in einer Zelle anwesenden mehreren Kerne oder Nukleonen) und s die Streuung.

Wenn wir klassifizieren, bedeuten die x die Klassenmitte-Logarithmen. Diese bzw. ihre Quadrate müssen mit der Anzahl der in der entsprechenden Klasse befindlichen Kerne multipliziert addiert werden; so erhalten wir Σx bzw. Σx^2 . Wenn der Umfang der Klasse h ist, muss die sog. Sheppardsche Korrektur zur Anwendung gelangen. Wenn wir anstelle von

$$s^2 = \frac{\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}}{n-1}$$
 den Wert $s'^2 = s^2 - \frac{1}{12} h^2$ nehmen, erhalten wir den richtigeren Wert der Streuung. Bei der Berechnung der Streuung ist es auch dann nicht erforderlich, den Korrektionsfaktor zu den einzelnen Werten zu addieren, wenn die benutzte Vergrößerung mit denen der Nomogramme nicht übereinstimmt, da dies an den Resultaten nichts ändert.

Sofern wir bei der Gruppierung der Ergebnisse nicht darauf achteten, dass der Durchschnitt genau in die Mitte der mittleren Klasse fällt, sondern von dieser auf b Entfernung abweicht, muss der Wert des Streuungsquadrats um b^2 verkleinert werden.*

In Kenntnis des Durchschnitts und der Streuung können wir genauer feststellen, inwieweit $\log V$ der normalen Verteilung folgt, woraus sich in vielen Fällen auch biologische Schlüsse ziehen lassen. Die Kenntnis der Streuungsberechnung ist auch zur Durchführung der vergleichenden statistischen Proben (z. B. der *Studentschen t-Probe*) nötig.

Unsere Nomogramme können nicht nur von jenen benutzt werden, die mit dem Projektionsverfahren arbeiten, sondern auch von Untersuchern, die das Okularmikrometer und Mikroplanimeter benutzen. Indessen wollen wir bemerken, dass wir das Projektionsverfahren für besser und bequemer halten als jene beiden Methoden.

Bei der Verwendung des Okularmikrometers können wir, wenn wir das 2- bzw. 3fache der mit dem Mikrometer erhaltenen μ -Werte nehmen, auf den linearen Nomogrammen auf den der 2000fachen bzw. 3000fachen Vergrößerung entsprechend gezahnten Seiten durch Verbindung der nach obiger Anleitung gewonnenen multiplizierten Werte die wirklichen $\log V$ -Werte ablesen. Die Anwendung dieser Methode lohnt sich aber nur für den, der auch die einzelnen $\log V$ -Werte anzuführen wünscht; falls jedoch der betreffende Forscher kein sehr sicherer Kopfrechner ist, dürfte es zweckmässiger sein, wenn er die mit dem Mikrometer gewonnenen μ -Werte selbst benutzt und die wirklichen $\log V$ -Werte errechnet, indem er zu jedem der auf diese Weise abgelesenen $\log V$ -Wert bei 2000facher Vergrößerung $0,9031 = \log 8$, bei 3000facher Vergrößerung $1,4317 = \log 27$ zugibt. Falls wir nur den Mittelwert und die Streuung errechnen wollen, ist das kürzeste und zweckmässigste Verfahren das folgende: Den wirklichen Durchschnitts- $\log V$ -Wert (d. h. den Logarithmus des arithmetischen Mittels der V) gewinnen wir, indem wir das arithmetische Mittel der aus den mit dem Mikrometer gewonnenen μ -Werte am Nomogramm abgelesenen $\log V$ -Werte bei Benutzung der zur 2000fachen Vergrößerung dienenden Punktlinie

*Die genaue Formel lautet eigentlich

$$s = \sqrt{\frac{\Sigma(x - \bar{x})^2 - nb^2}{n-1}}$$

aber die erwähnte Methode ist einfacher, und ihr Fehler beträgt bei 200 Messungen nur noch $2-3\%$.

des Nomogramms um $\log 8 = 0,9031$, bei Benutzung der zur 3000fachen Vergrößerung dienenden Punktlinie um $\log 27 = 1,4317$ vergrößern; auch die Streuung berechnen wir aus den ursprünglichen Mikrometerresultaten, was auch ohne Korrektion den richtigen Wert ergibt.

Mit dem *Casperssonschen* mikroplanimetrischen Verfahren (in der *Sandritterschen* — praktisch einfacheren — Modifikation) lässt sich bei gegebener Vergrößerung nur eine Kerngruppe von gewisser Grösse messen. Bei der Messung grösserer oder kleinerer Kerne muss der Vergrößerungsgrad, eventuell auch während der Messung desselben Präparats, durch entferntere Einstellung des Okulars bzw. durch Einstellung eines anderen Objektivs verändert werden. Alle diese Vergrößerungen lassen sich im voraus messen und die gleiche Einstellung nach Belieben wiederholen. In diesem Fall kann bei der Bewertung ein und desselben Präparats, sofern wir verschiedene Vergrößerungen benutzten, die Anwendung mehrerer Korrektionsfaktoren notwendig werden. Der Gebrauch der Nomogramme erübrigt die Herstellung einer Kalibrationskurve (der sog. Eichkurve), da wir in Kenntnis des Vergrößerungsgrades und Korrektionsfaktors die $\log V$ - bzw. V -Werte errechnen können.

Falls wir in einer Zelle mehrere Kerne oder Nukleolen finden, suchen wir ihren $\log V$ -Wert auf dem Nomogramm Nr. 7 zurück, addieren die hierbei gewonnenen Werte und rechnen diese auf demselben Nomogramm auf $\log V$ zurück. Die Volumenproportionen der Kerne und Nukleolen erhalten wir durch Subtrahieren der entsprechenden $\log V$ -Werte und durch Zurücksuchen des Resultats.

Die Genauigkeit des Nomogramms. Bei der Messung von 200 Zellkernen wies der Durchschnitt der gewonnenen $\log V$ -Werte, falls die Nomogramme *genau* abgelesen wurden, vom Durchschnitt der einzeln, mit Hilfe der Formel nachgewiesenen $\log V$ -Werte lediglich 1—2⁰/₀₀ Abweichung auf.

Wir hoffen, dass die Anwendung unserer Nomogramme die Arbeit der Kernvariationsuntersuchungen durchführenden Forscher erleichtern und präziser gestalten wird.

*

Auch an dieser Stelle danken wir R. CSER, M. MESZLÉNYI, F. HORVÁTH und I. SÓLYOM, Mitarbeitern der Abteilung für Numerische und Graphische Methoden des Forschungsinstituts für Mathematik der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, für ihre wertvolle Mithilfe bei der Anfertigung der Nomogramme.

Nomogramm 1.

$$V = \frac{\pi}{48} (L + B)^3$$

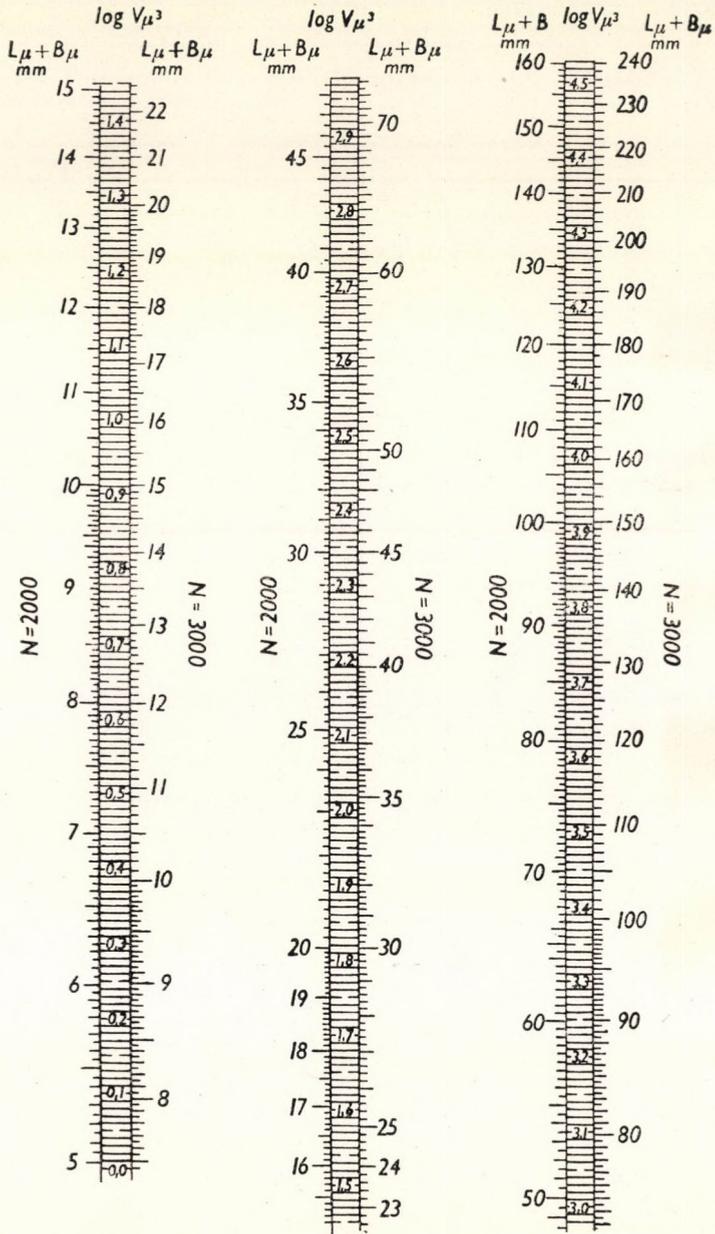


Abb. 1

Nomogramm 2.

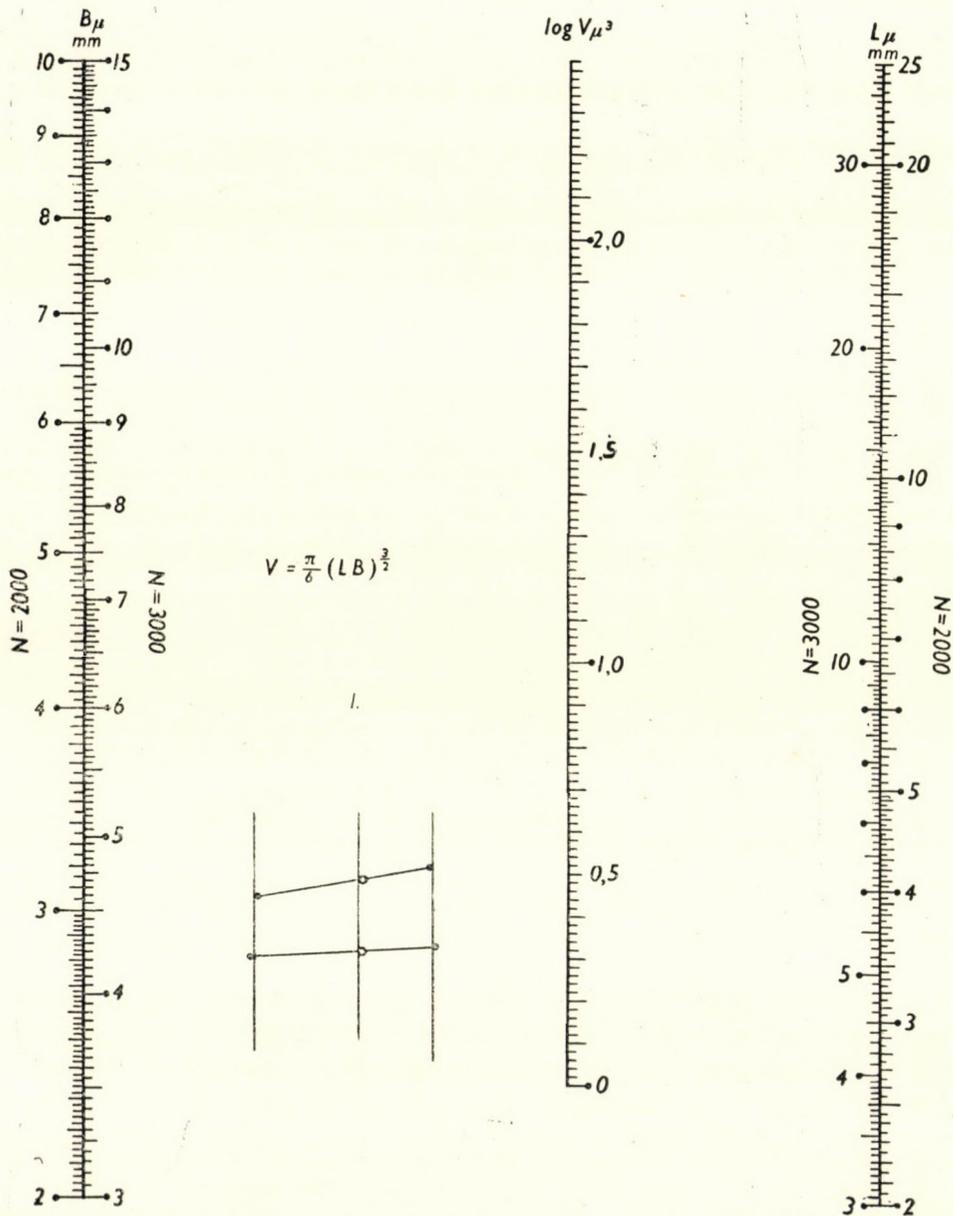


Abb. 2

Nomogramm 2.

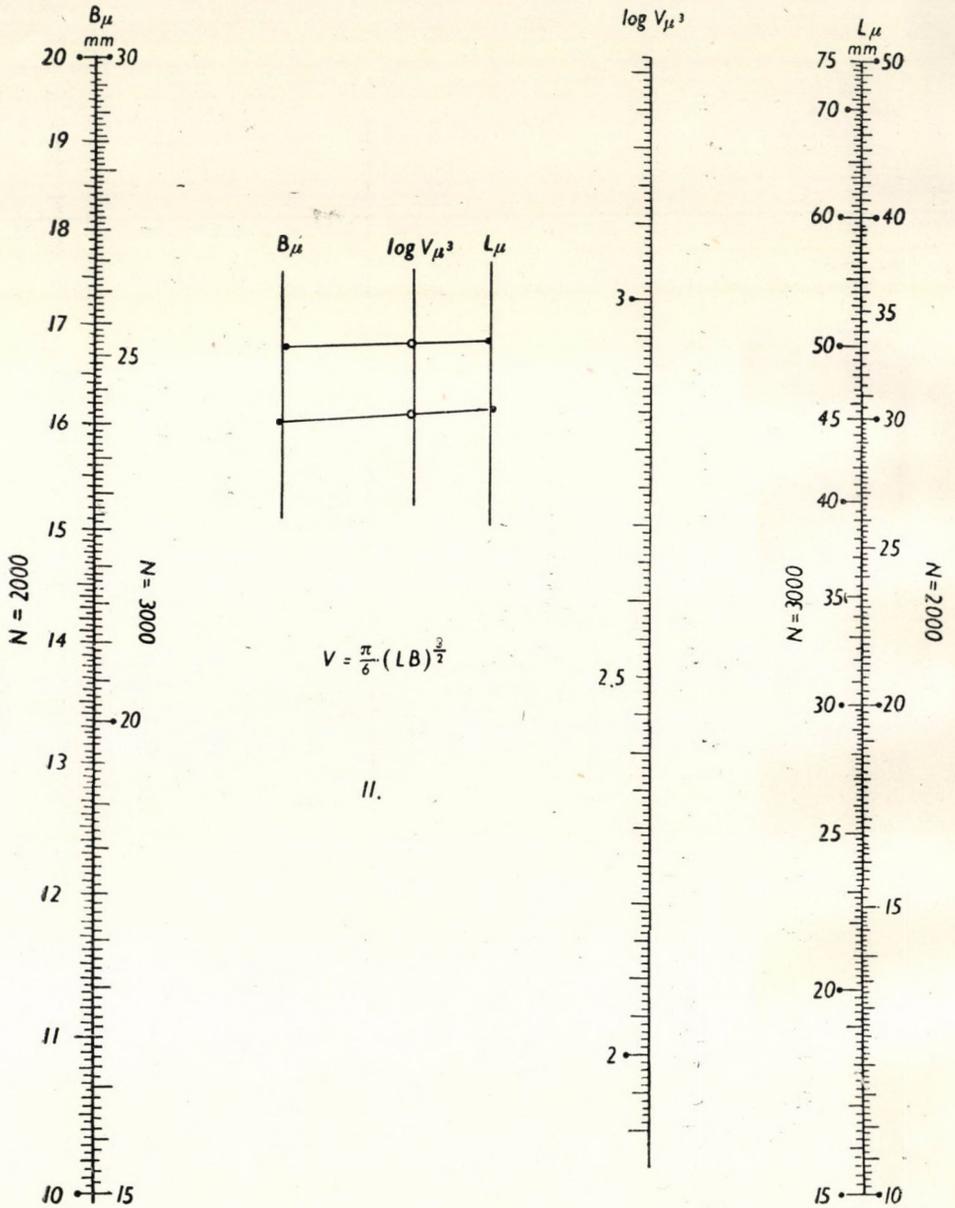


Abb. 3

Nomogramm 2.

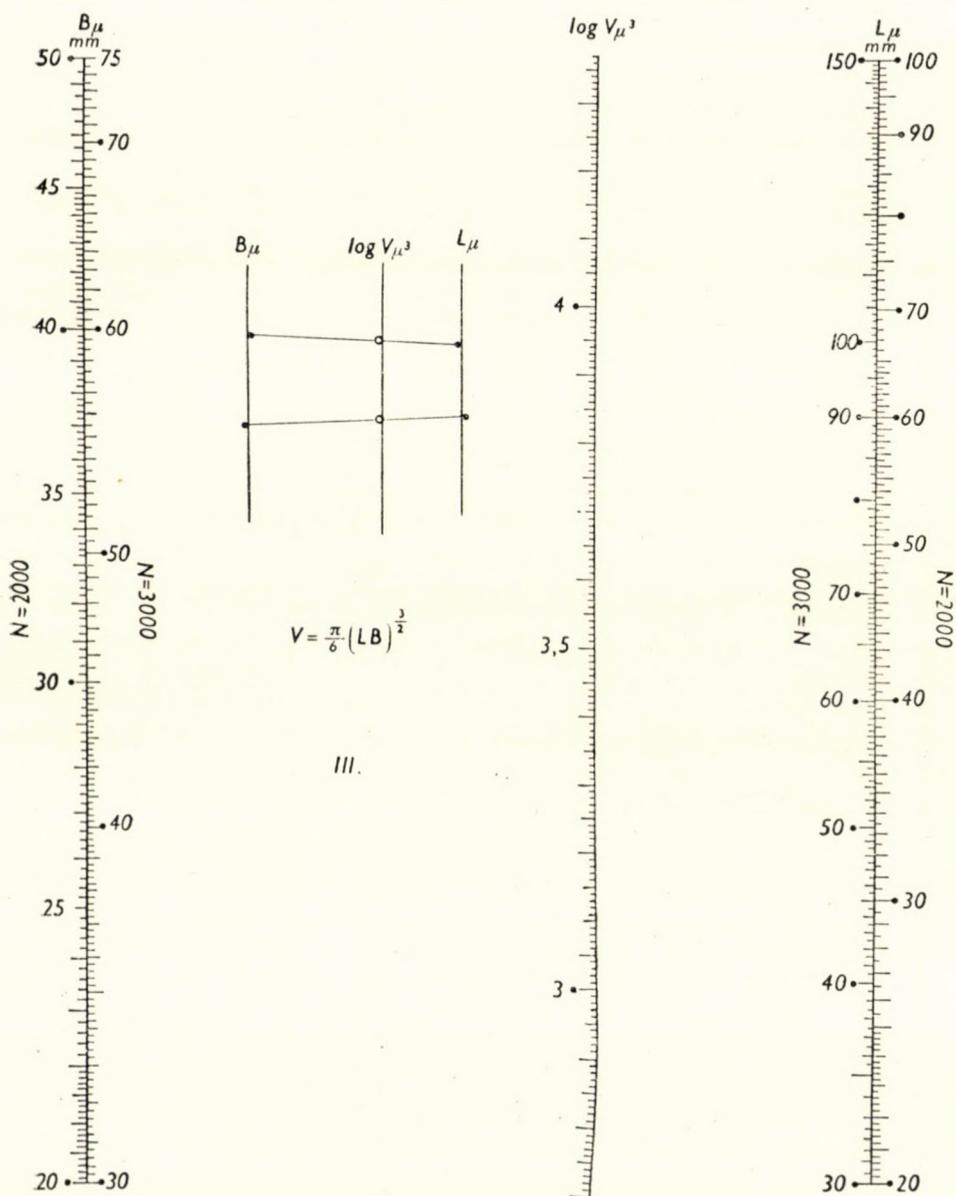


Abb. 4

Nomogramm 3.

$$V = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{F}{\pi} \right)^{\frac{3}{2}}$$

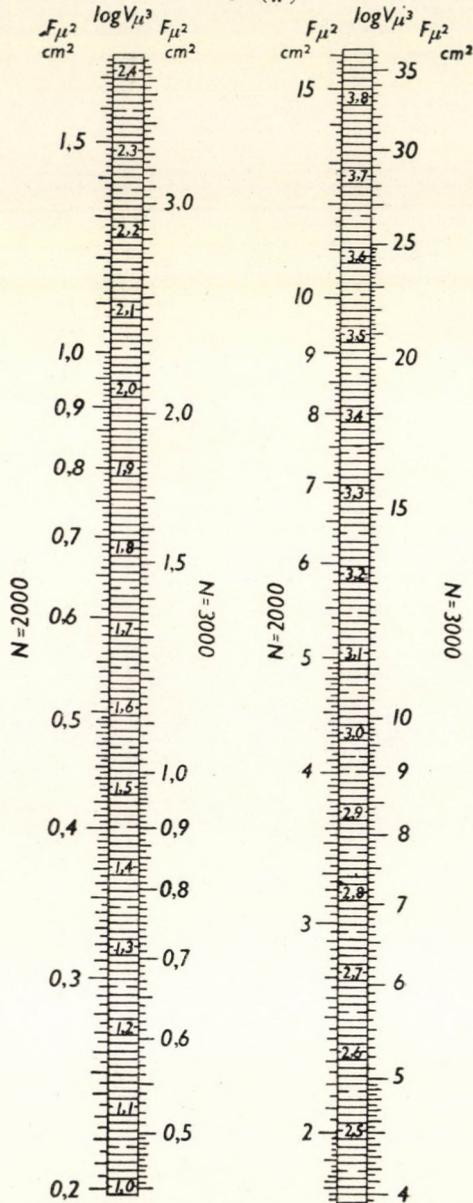


Abb. 5

Nomogramm 4.

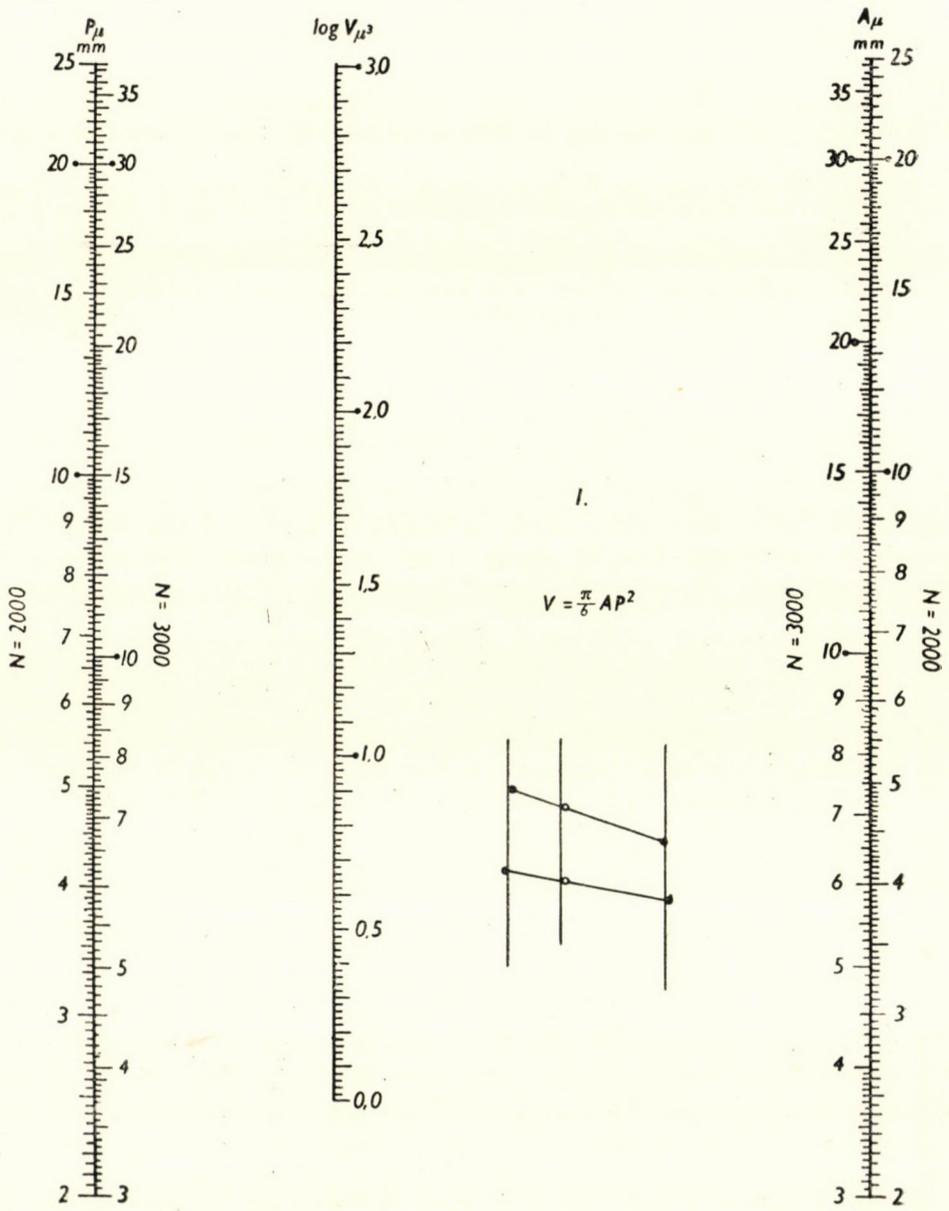


Abb. 6

Nomogramm 4.

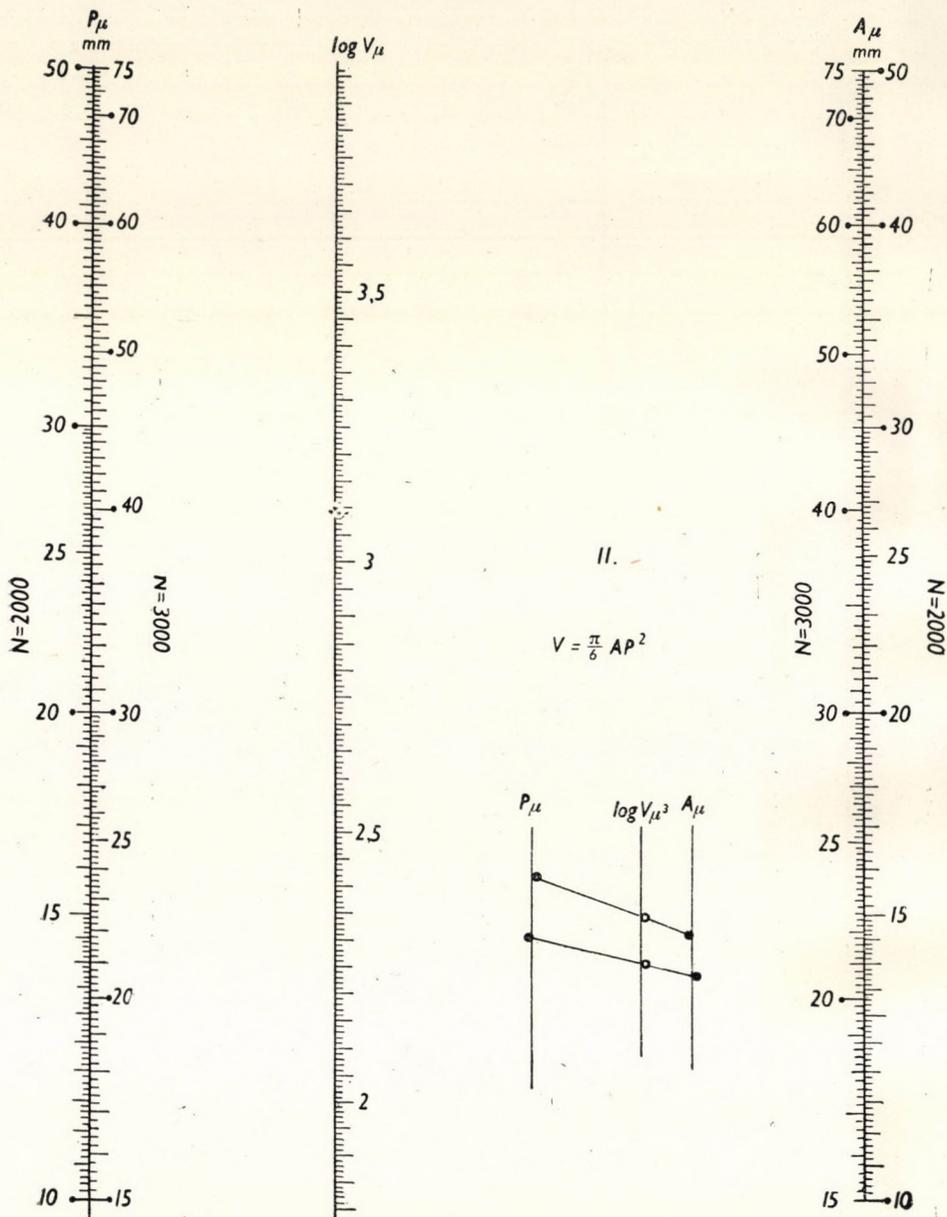


Abb. 7

Nomogramm 4.

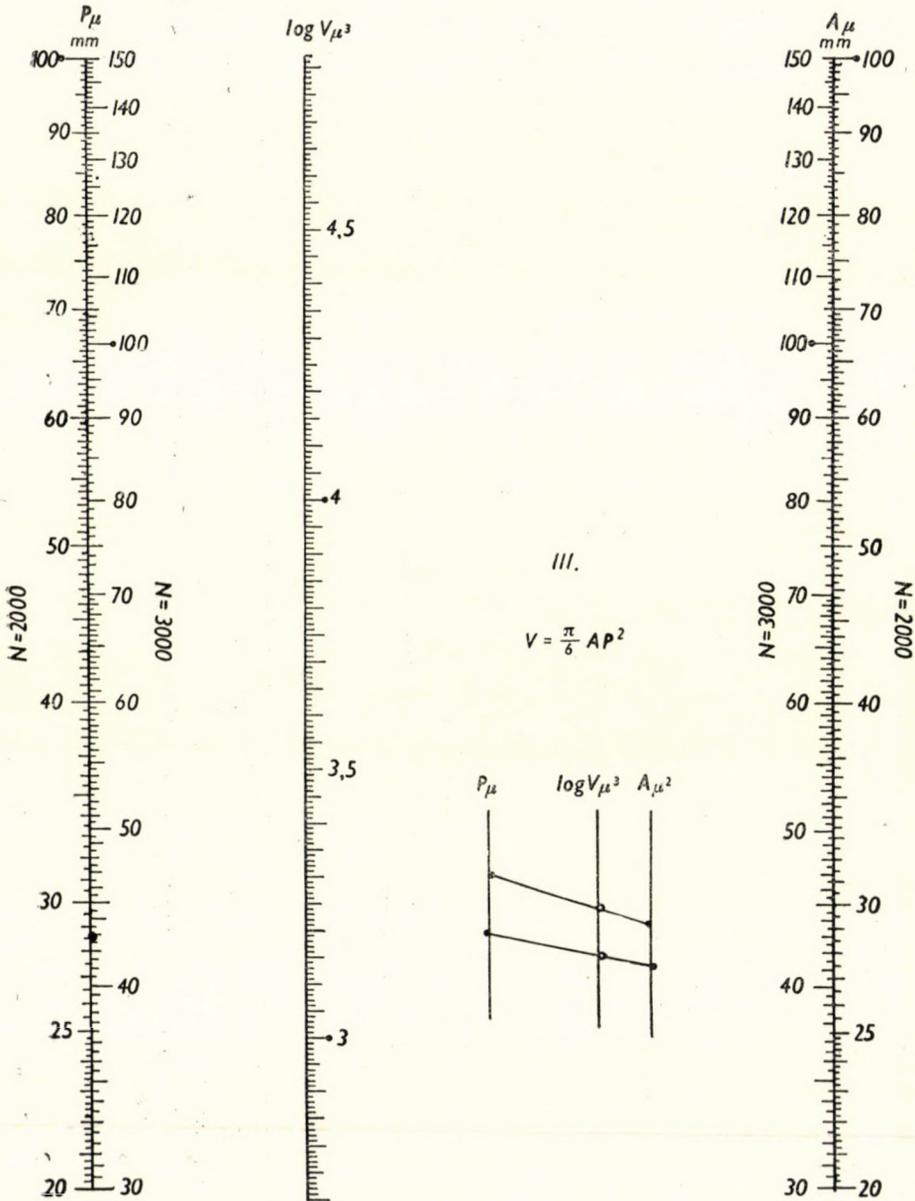


Abb. 8

Nomogramm 5.

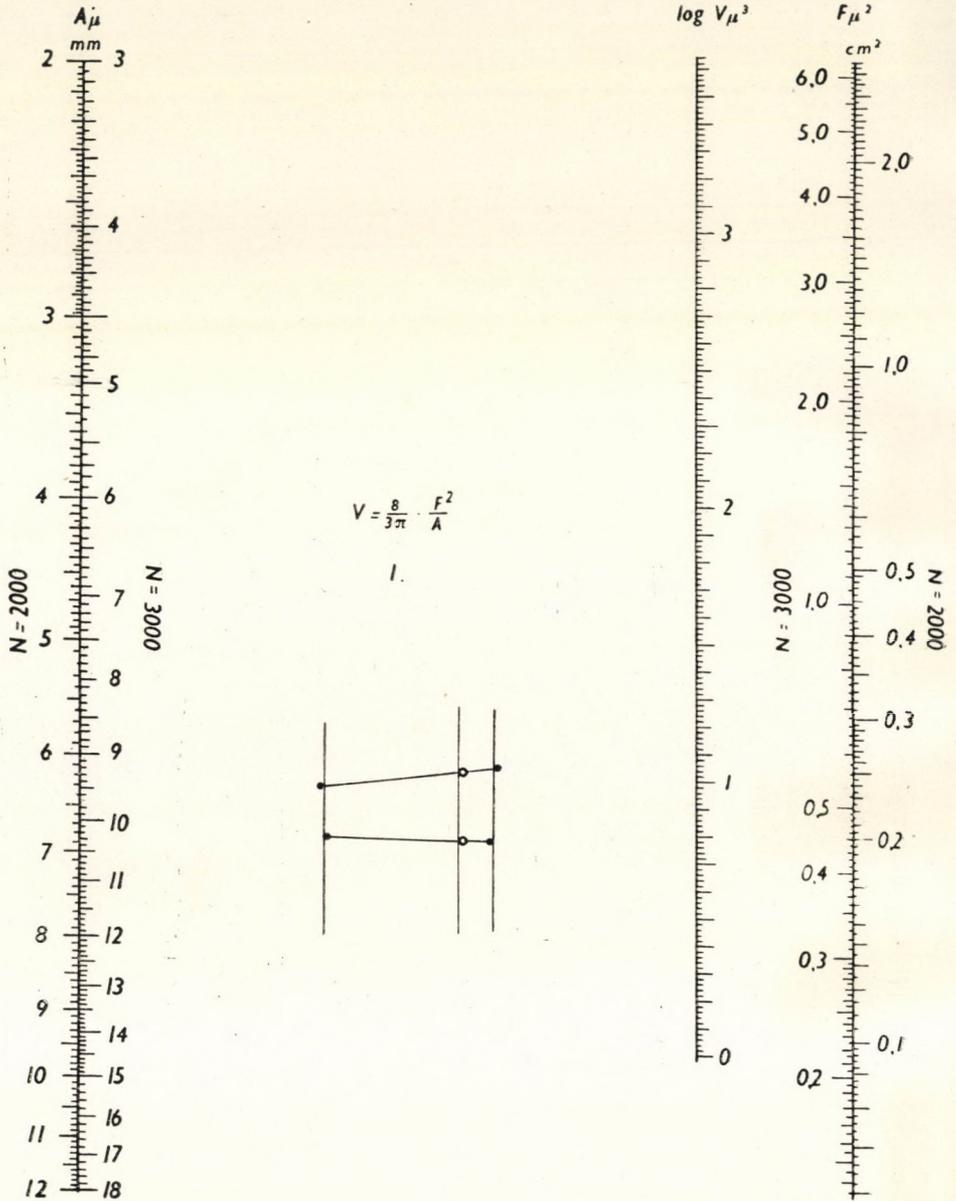


Abb. 9

Nomogramm 5.

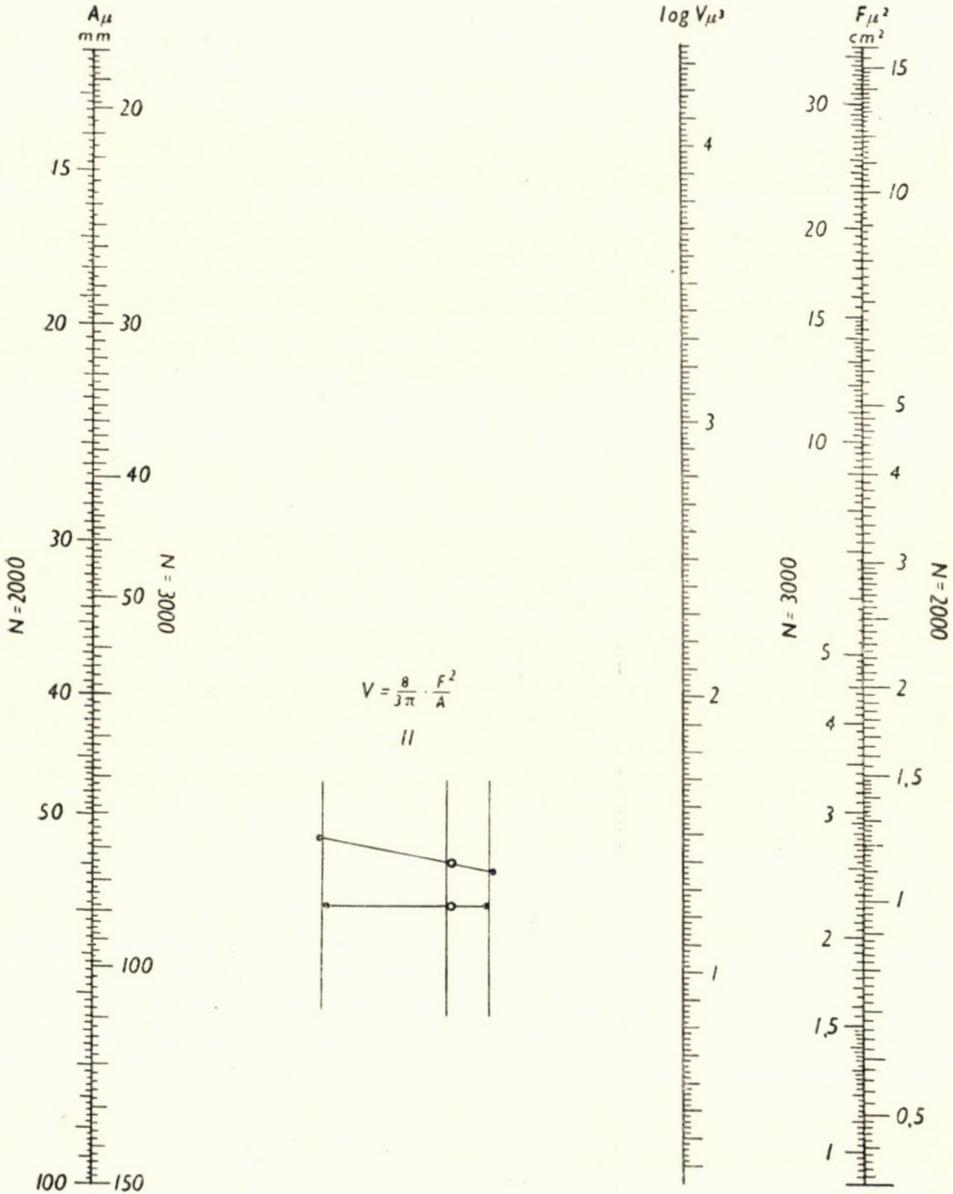


Abb. 10

Nomogramm 6.

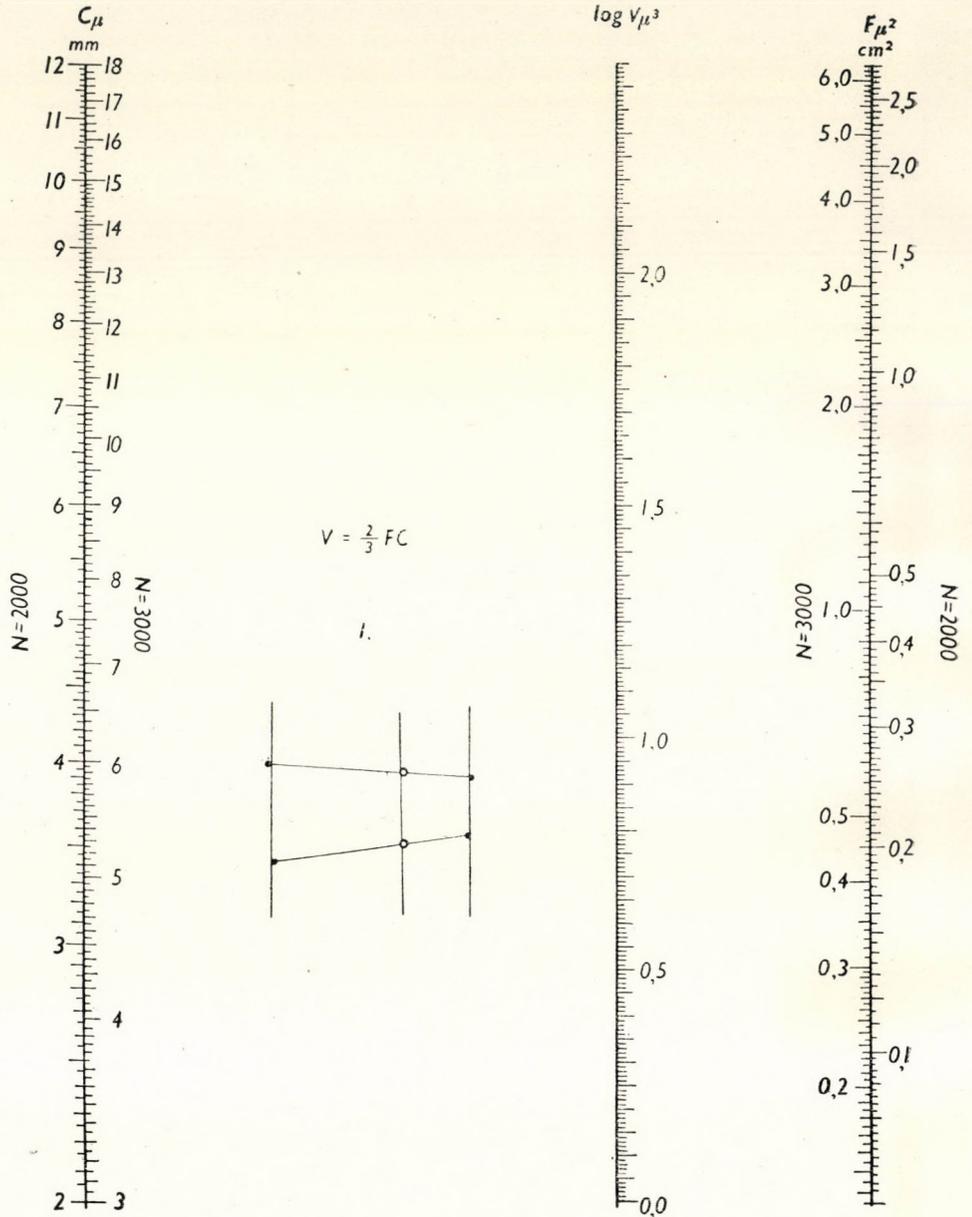


Abb. 11

Nomogramm 6.

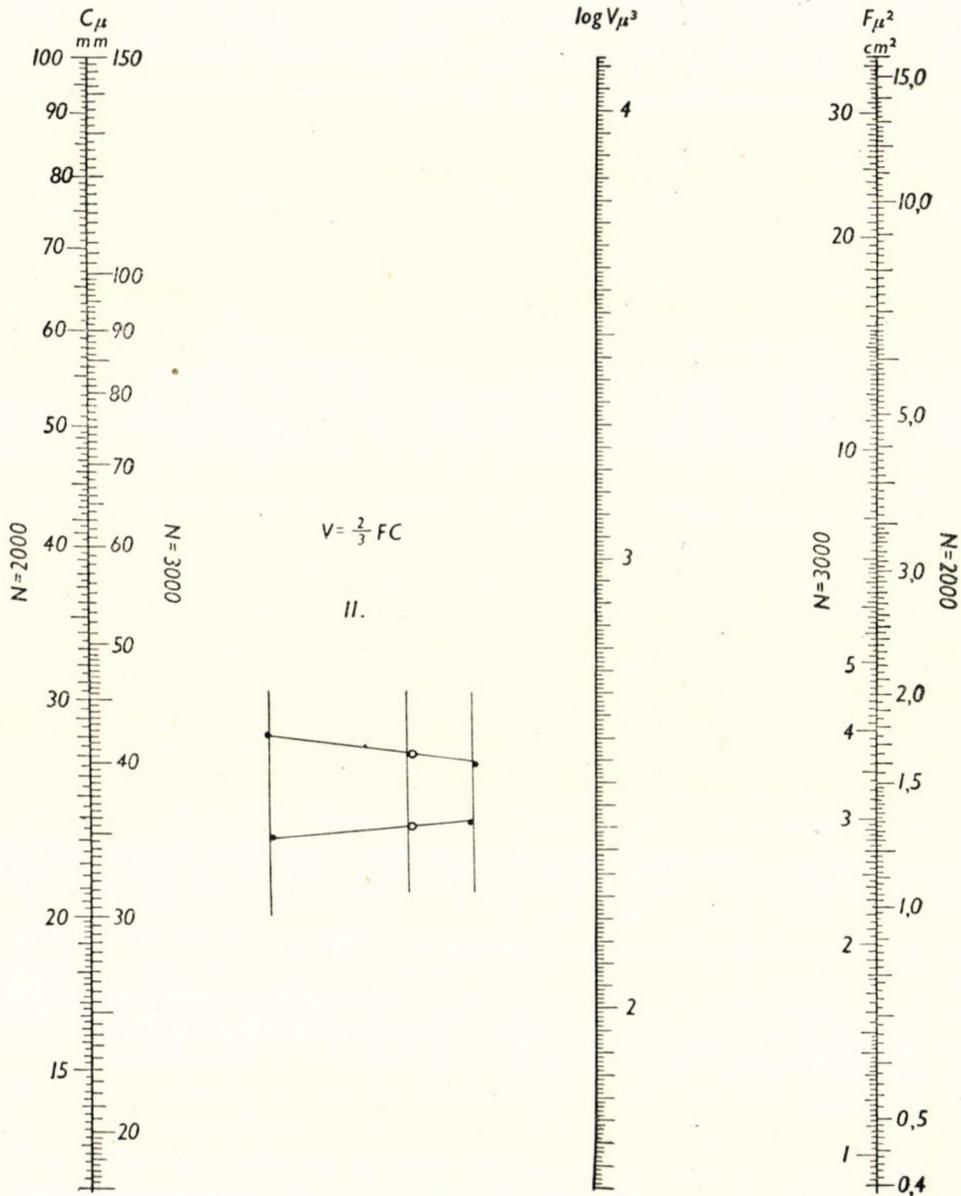


Abb. 12

Zusammenfassung

Zur Erleichterung kariometrischer Berechnungen wurden Nomogramme hergestellt. Die Nomogramme wurden für 2000- bzw. 3000fache Vergrößerung ausgearbeitet, lassen sich aber auch bei anderen Vergrößerungen verwenden. Der Gebrauch der entsprechenden Nomogramme für lineare, planimetrische und kombinierte Verfahren bei ellipsoid- bzw. kugelförmigen Kernen wird ausführlich besprochen. Die Nomogramme wurden vor allem für die mit dem Projektionsverfahren arbeitenden Forscher entworfen, lassen sich aber auch bei Anwendung des Okularmikrometers und Mikroplanimeters benutzen. Für Untersucher, die nicht mit 2000- oder 3000facher Vergrößerung oder nicht mit dem Projektionsverfahren arbeiten, ist die Umrechnung mit Hilfe einer einfachen Tabelle durchführbar.

Durch Anwendung der Methode wird die langwierige Berechnungszeit auf einen Bruchteil verkürzt, die Genauigkeit der Berechnungen aber dadurch nicht gefährdet. Auch Forscher mit sehr geringer Praxis vermögen die Berechnungen unter Zuhilfenahme dieser Nomogramme mit geringerem Fehler als 1% vorzunehmen. Durch Anwendung des Verfahrens werden daher langdauernde Rechenoperationen sowie Anfertigung und Gebrauch anderer Hilfsmittel (z. B. Kalibrationskurve usw.) überflüssig.

LITERATUR

1. ARNOLD, A.: (1951) Beiträge zur quantitativen Histologie des Alloxandibetes der Albinoratte. Die Kerngrößen der Inselzellen. *Acta Anat.* 12, 396—428. — 2. DONTEVILLE, W.: (1955) Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss von Hormonen auf das Walker-Carcinom der Ratte und auf die Entwicklung des Benzpyren-Tumors der Mäusehaut. *Zsch. Krebsforsch.* 60, 482—513. — 3. CASPERSSON, T.: (1950) Cell Growth and Function. A Cytological Study. W. W. Norton & Co. New York. 185. p. — 4. CASPERSSON, T., FREDRICKSON, F., THORSON, K. G. (1953) A microplanimeter for measurement of endonuclear structures. *Hereditas* (Lund) 39, 201. — 5. HINTZSCHE, E.: (1946) Biologische Statistik durch materialgerechte Klasseneinteilung. *Schweiz. Ztschr. Volksw. Stat.* 82, 433—444. — 6. JACOB, W.: (1925) Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens. *Arch. Entw. Mechanik*, 106, 124—192. — 7. MICKLEWRIGHT, H. L., KURNICK, A. B., HODES, R. H.: (1953) The Determination of Cell Volume. *Exper. Cell Res.* 4, 151—154. — 8. MÖRIKE, K. D.: (1953) Mathematische Erörterungen zur Messmethodik von nichttrunden Zellkernen. *Anat. Anz.* 100, 87—95. — 9. PUFF, A.: (1953) Methode zur planimetrischen Kernvolumenbestimmung an uneinheitlichem Kernmaterial. *Z. Wiss. Mikroskopie* 61, 210—212. — 10. SANDRITTER, W.: (1955) Über die Bedeutung des Nukleolus in der Nebennierenrinde. *Frankf. Z. Path.* 56, 219. — 11. VOSS, H.: (1951) Die Volumenbestimmung kugelförmiger Kerne mit der indirekten oder Planimetermethode. *Anat. Anz.* 98, 41—46.

НОМОГРАММЫ ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ОБЪЕМА ЯДЕР

Я. ФИШЕР и Г. ИНКЕ

Авторы дают описание номограмм для облегчения kariometрических исчислений. Номограммы были разработаны для 2000 или же 3000 кратного увеличения, но они применимы и в случае других увеличений. Авторы подробно излагают в случае эллипсоидных, или же круглых ядер применение номограмм, соответствующих для линейных, планиметрических и комбинированных способов измерения. Номограммы были разработаны прежде всего для исследователей, работающих способом проекции, но они могут быть с успехом использованы также и при работе окуломикрометром и микропланшетом. При работе не 2000 или 3000 кратным увеличением, или же не способом проекции превращение осуществляется с помощью простой таблицы.

С помощью метода авторов длительное время вычисления можно значительно сократить без опасности для точности вычислений. Даже малоопытные исследователи производят вычисления с помощью этих номограмм ошибочностью не выше 1%. Благодаря этому применением способа авторов длительные вычисления как и изготовление и применение других вспомогательных средств (калибрационная кривая и т. д.) становятся излишними.

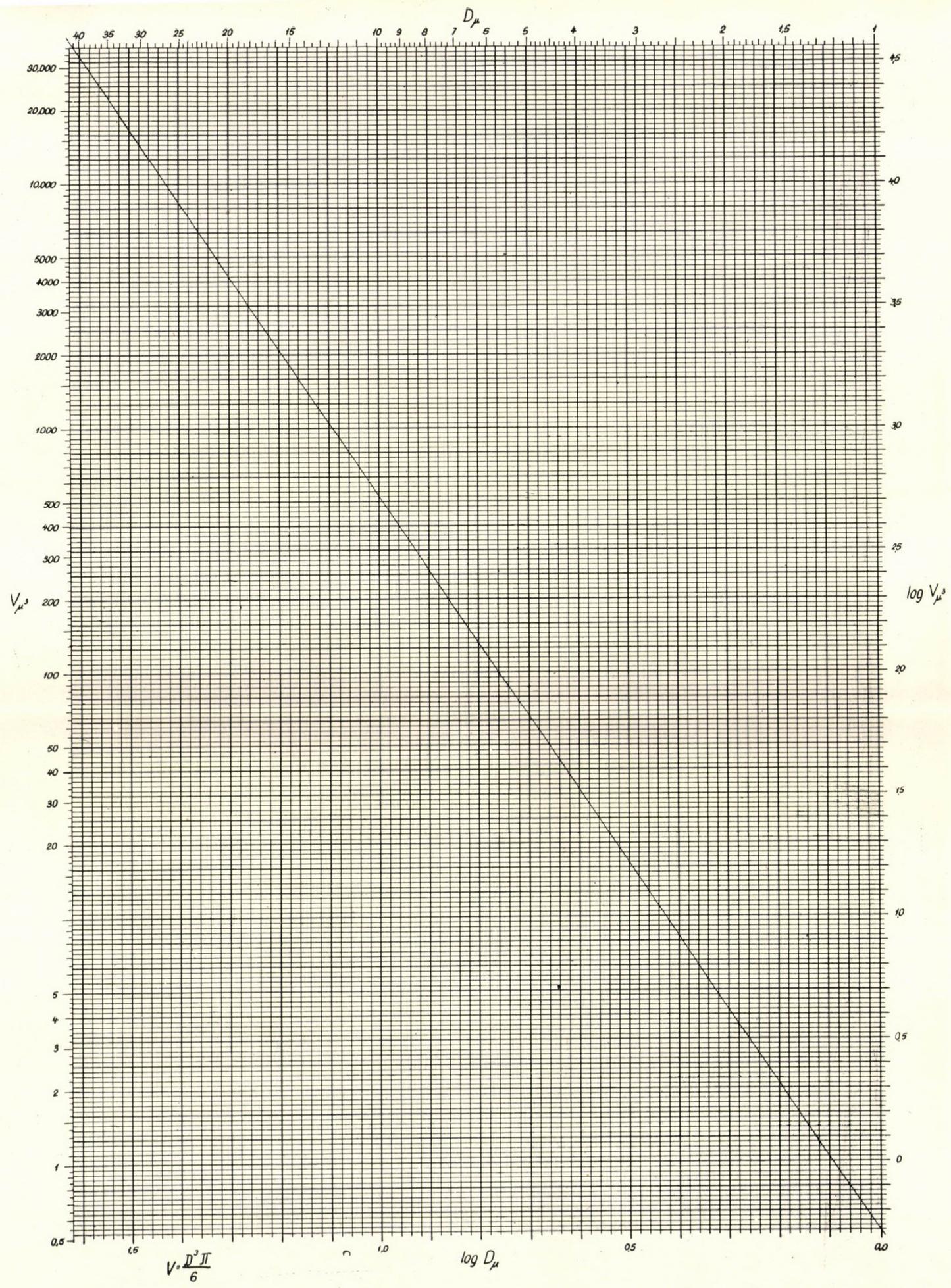
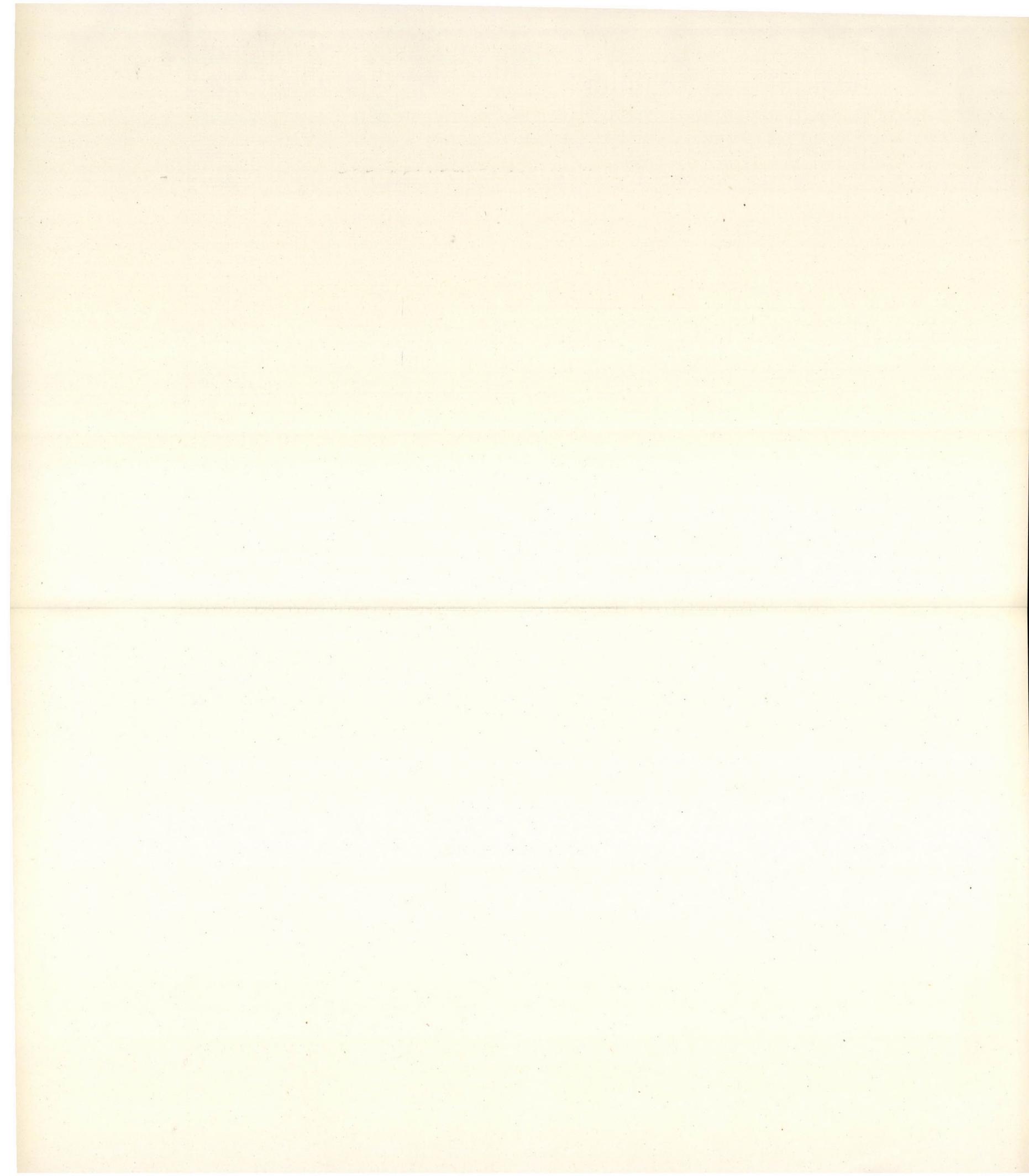


Abb. 13.



NOMOGRAMS FOR KARIOMETRY

J. FISCHER and G. INKE

Nomograms have been constructed for use in kariometric calculations, for magnifications of $\times 2000$ and $\times 3000$, but they can be adopted to other magnifications as well. The use of suitable nomograms in the linear, planimetric and combined methods with ellipsoid and spherical nuclei is discussed in detail. The nomograms have been constructed in the first place for work by projection, but workers using the ocularmicrometer and the microplanimeter can also use them. When magnifications other than $\times 2000$ or $\times 3000$ are used, or with methods other than the projection one, the necessary conversions can be carried out by means of a simple table.

By the use of the method, calculation can be reduced to fractions of the usual, without endangering thereby their accuracy. Even those with very little experience in this type of work may make the calculations with an error smaller than 1 per cent. Thus, the method makes lengthy calculations as well as the preparation and construction of other aids (e. g. calibration curve) superfluous.

János FISCHER, Budapest, XIII., Pozsonyi út 41. Ungarn.

Dr. Gábor INKE, Budapest, IX., Tűzoltó u. 58. Ungarn.