

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Heidelberg. — Direktor: Geh.
Rat Ernst.)

Über die formale Genese der Färbbarkeitsumstimmung roter Blutkörperchen durch Kohlensäurebehandlung.

Von

Dr. Erich Eckstein,
früher Assistent am Institut.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Mai 1924.)

In einer in Bd. 249 dieses Archivs erschienenen Arbeit konnte ich zeigen, daß die Färbbarkeit überlebender roter Blutkörperchen durch Kohlensäure umgestimmt wird: nicht vorbehandelte Erythrocyten nehmen bei Färbung nach *Alzheimer* aus dem Methylblau-Eosingemisch das Eosin, mit Kohlensäure vorbehandelte das Methylblau an. Über die kausale Genese dieser Färbbarkeitsumstimmung kann kein Zweifel bestehen; sie ist die Folge der vorausgegangenen Kohlensäureeinwirkung. Ihre formale Genese stellte ich mir so vor, daß die aufgenommene Kohlensäure sich an das Hämoglobin anlagert, und daß Carbohämoglobin, ein anderer Körper, sich nun nicht mehr mit Eosin, sondern mit Methylblau färbt; wie etwa eine kollagene Faser sich färberisch anders verhält als eine Neurofibrille, weil sie aus anderem Stoff besteht.

Diese Vorstellung, andere Färbung, weil anderes Substrat, hat sich nicht halten lassen. Weitere Beobachtungen führten vielmehr immer mehr zu der Vermutung, daß bei der Färbbarkeitsumstimmung zwei Umstände in Betracht kommen, die Kohlensäure und das Fixierungsmittel.

Bereits in der ersten Veröffentlichung habe ich die Randerscheinungen an Agarblöcken ausführlich beschrieben, ohne sie erklären zu können. Eine Gaswirkung, an die ich zuerst dachte, konnte ausgeschlossen werden. Es blieb daher als Ursache nur das Formol übrig.

Der Befund an den Rändern nicht vorbehandelter Blöcke zeigt drei wichtige Tatsachen: im Bereich der blaugefärbten peripheren Erythrocyten ist auch der Agar leicht blau geworden, während er in der Mitte des Blocks ungefärbt geblieben ist. Da dieser Befund auch bei völliger Entfernung des Plasmas (Eiweißfreiheit der Zentrifugierflüssigkeit) nicht ausbleibt und Agar allein keine Färbung annimmt, kann die sich färbende Masse nur aus den Erythrocyten stammen; d. h. es ist eine

leichte Hämolyse eingetreten. Die zweite wichtige Tatsache ist die, daß an der Aufliegefläche des Blockes diese Formolwirkung nicht eintritt; dieser Teil der Peripherie verhält sich also wie das Zentrum. Bemerkenswert ist endlich das färberische Verhalten der ausgetretenen Blutkörperchensubstanz: sie färbt sich blau, nicht rot.

Wir haben also gesehen: An der Blockperipherie tritt dort, wo das Formol freien Zutritt hat, eine leichte Hämolyse ein, während sich an der Aufliegefläche sowie im Blockzentrum keine Hämolyse findet. Wodurch ist dieser Unterschied in den verschiedenen Blockgebieten bedingt? Der Blutagarblock stellt ein die Erythrocyten einschließendes Gel dar, in welches das Formol eindiffundiert. Während des Eindiffundierens, das eine gewisse Zeit dauert, findet sich von der Peripherie zum Zentrum hin ein Konzentrationsgefälle, bis das Gleichgewicht der Formolkonzentration in Flüssigkeit und Gel entsprechend dem Lösungsvermögen beider erreicht ist. Hierbei bildet sich in der Peripherie offenbar rascher eine höhere Konzentration aus, während die Konzentration im Zentrum im Anfang geringer ist und langsamer ansteigt.

Wir haben also die Tatsache: Formol in rasch zu beträchtlicher Höhe ansteigender Konzentration wirkt auf Erythrocyten in Agar vor der Fixierung leicht hämolysierend; Formol, zuerst in geringer Konzentration vorhanden und langsam an Konzentration zunehmend, wirkt fixierend ohne vorher zu hämolysieren. Ist dem so, dann muß die periphere Differenzierung im Formol ausbleiben, wenn die Diffusionsverhältnisse in der Blockperipherie den Verhältnissen im Zentrum gleich gemacht werden. Das ist bei jedem Block an der Aufliegefläche der Fall; bei den übrigen, dem Formol preisgegebenen Grenzflächen kann es dadurch erreicht werden, daß die Formaldehydkonzentration in der Fixierungsflüssigkeit herabgesetzt wird; das Eindiffundieren wird dann infolge des geringeren Konzentrationsgefälles Flüssigkeit-Gel langsamer vorstatten gehen, und die Endkonzentration wird nicht mehr zur Hämolyse, nur noch zur Fixierung ausreichen. Weiter wird von Interesse sein, ob und welchen Einfluß noch geringere, auch nicht fixierende Formolkonzentrationen ausüben.

Entsprechend der Zwienatur des Formols (Haemolyticum und Fixierungsmittel) wurde nun der Einfluß des Formols in absteigender Konzentration von der Stammlösung bis zur unendlichen Verdünnung untersucht. Die angewandten Konzentrationen waren folgende¹⁾:

Die gebrauchte Stammlösung wurde mit 0,9% Kochsalz versetzt.

Aus praktischen Gründen (geringere Belästigung durch den Geruch) wurde von Nr. 4 ab als Ausgangsmaterial nicht die Stammlösung, sondern ihre bisher ausschließlich gebrauchte Verdünnung mit vier Teilen Ringer benutzt.

¹⁾ Die an diese Stelle gehörende Tabelle steht aus technischen Gründen auf S. 556.

Nr.	Formol (Stammlösung) Teile	Ringer Teile	Formaldehydgehalt in Prozenten
1	1	0	40,0000
2	1	1	20,0000
3	1	4	8,0000
	Formol 8 % Teile		
4	1	1	4,0000
5	1	2	2,6667
6	1	4	1,6000
7	1	9	0,8000
8	1	29	0,2667
9	1	59	0,1333
10	1	119	0,0667
11	1	∞	0,0000

Die Blöcke wurden 24 Stunden der Formolwirkung ausgesetzt; hierauf Fixierung mit 8 proz. Formol.

Befund bei Einwirkung von Formollösungen in absteigender Konzentration.

Gewaschenes Blut (Ersatz des Plasmas durch Ringerlösung). Agar-einbettung.

Die Nr. 1—11 entsprechen den oben angeführten Formolverdünnungen.

a) Unbehandelte Blöcke.

1. Dreiteilung der Peripherie: Erythrocyten in der Außenzone blau, in der Mittelzone meist gelb, zum Teil rot, in der Innenzone blau. Agar in der Außenzone leicht blau, in der Mittelzone farblos, in der Innenzone angedeutet blau. In der Außenzone zahlreiche Erythrocytenschatten, deren Färbungsintensität mit der des umgebenden Agars übereinstimmt. Erythrocyten des Zentrums rot, Agar ungefärbt.

2. Erythrocyten peripher in breiter Zone blau; in der äußeren Hälfte zahlreiche Schatten und stärkere Agarbläbung. In der inneren Zone geringe Blau-tönung des Agars. Erythrocyten zentral rot, Agar ungefärbt.

3. Erythrocyten in breiter Randzone blau, ganz außen großenteils rötlichblau, vermischt mit einigen roten; Agar ziemlich intensiv blau. Erythrocyten im Zentrum rot, Agar ungefärbt.

4. Peripherie: Erythrocyten in schmaler Zone hellblau, vermischt mit einigen roten und zahlreichen gelben (Eosin und Methylblau ablehnenden). Zentrum: Erythrocyten hellgelb, Agar ungefärbt.

5. Kein Unterschied zwischen Peripherie und Zentrum. Erythrocyten überall rot, Agar ungefärbt.

6. In der Peripherie Erythrocyten etwa zu gleichen Teilen hellblau und rot, im Zentrum rot, vermischt mit einigen farblosen. Agar überall ungefärbt.

7. Erythrocyten der Peripherie in ziemlich breiter Zone hellblau; Agar ganz leicht blau getönt. Erythrocyten im Zentrum etwa zu gleichen Teilen rot und gelb; Agar ungefärbt.

8. Erythrocyten in breiter Randzone hellblau; Agar deutlich blau getönt. Im Zentrum Erythrocyten rot, vermischt mit einigen gelben; Agar ungefärbt.

9. Erythrocyten in der Peripherie blau, vielfach stark ausgelaugt. Agar ziemlich intensiv blau. Erythrocyten im Zentrum meist rot, einige farblos. Agar ungefärbt.

10. Im wesentlichen wie voriges.

11. Wie voriges.

Bemerkenswerte Abweichungen von dem eben gebrachten Befund finden sich in zweierlei Hinsicht:

1. Bei Fixierung in Stammlösung sind die zentralen Erythrocyten häufig gelb.

2. Nach Anwendung der Formolverdünnung 7, 8, gelegentlich auch 6, können die zentralen Erythrocyten ganz oder großenteils blau sein, bei deutlicher Blaufärbung des Agars. Auch in diesen Fällen bildet sich eine periphere Differenzierung nicht aus, nicht weil die peripheren Erythrocyten nicht blau werden, sondern weil auch die zentralen es werden.

Wir haben also an den in Agar eingebetteten Blutkörperchen 2 Formolwirkungen zu unterscheiden:

1. Bei raschem Eintreten einer starken Formolkonzentration ständig Blaufärbung der Erythrocyten und Farbstoffaustritt in den Agar.

2. Bei gewissen niederen, nicht fixierenden Formolkonzentrationen häufig Blaufärbung der Erythrocyten und Farbstoffaustritt. Die Konzentrationsbreite, innerhalb der diese Wirkung erfolgte, war in den verschiedenen untersuchten Fällen eine verschiedene; ganz fehlte eine Färbbarkeitsbeeinflussung nie (s. o. unter Nr. 6—8).

b) Wir lassen nun in Agar eingebettete Erythrocyten eine Stunde in Kohlensäureatmosphäre stehen und bringen sie hierauf in gleicher Weise auf 24 Stunden in die verschiedenen Formolverdünnungen. Das Ergebnis sei hier kurz protokolliert.

1. Erythrocyten in der äußeren Peripherie blau, gequollen, vielfach ausgelaugt, bei ziemlich starker Agarfärbung. In den inneren zwei Dritteln der Peripherie Erythrocyten hellgelbblaue, nach innen schließlich rein gelb, bei leichter Agarblautönung. Erythrocyten zentral rot, Agar ungefärbt.

2. Kein wesentlicher Unterschied. Erythrocyten in der Peripherie weniger ausgelaugt, Agar weniger intensiv blau.

3. Erythrocyten in der Peripherie gequollen, rot, homogen oder fein granuliert. Agar leicht blau. Erythrocyten im Zentrum blau, Agar überall deutlich blau.

4. Erythrocyten in Peripherie und Zentrum gleichmäßig blau. Agar etwas stärker blau.

5. Erythrocyten überall blau, großenteils stärker ausgelaugt. Agarbläbung noch stärker.

6. Erythrocyten viel blasser blau, zum Teil hochgradig ausgelaugt. Agar stark gefärbt.

7. Etwa 1 Drittel der Erythrocyten schattenhaft, die erhaltenen blau. Agar stark blau.

8. Erythrocyten wieder besser erhalten, blau. Agar intensiv blau.
9. Erythrocyten in breiter Randzone hellblau; Agar deutlich blau. Im Zentrum rote, dunkler und heller blaue und blaugelbe Erythrocyten etwa zu gleichen Teilen gemischt. Agar leicht blau getönt.
10. Erythrocyten in der Peripherie hellblau; ebenso Agar. Im Zentrum überwiegen die roten Erythrocyten bei weitem, außerdem blaugelbe und rein gelbe. Agar ganz wenig blau getönt.
11. Im wesentlichen der gleiche Befund. In der Außenzone der Peripherie sind fast alle Erythrocyten zerstört.

Anschließend berichte ich über die Wirkung der gleichen Formolbehandlung auf Blutagarblöcke, welche eine Stunde in einer von Kohlensäure durchperlten Ringerlösung gelegen haben.

1. Makroskopisch erscheint die Hauptmasse des Schnittes blau, nur ein kleiner zentraler Kern von ovaler Gestalt ist rot. Im einzelnen zeigt sich von außen nach innen:

- a) Eine ziemlich breite Zone mit dunkelblauen Erythrocyten und ziemlich intensiver Agarblaufärbung.
- b) Eine Zone mit heller blauen Erythrocyten, mit roten in mäßiger Menge vermischt, ohne Agarfärbung.
- c) Eine etwas breitere Zone mit hauptsächlich blauen, spärlichen roten Erythrocyten und wieder deutlich blauem Agar.
- d) Weiterhin gesellen sich den blauen Erythrocyten in steigender Zahl rote bei, während der Agar rasch farblos wird. Diese Zone geht ohne scharfe Grenze über in
- e) das bereits makroskopisch als rotes Oval erkennbare Zentrum. Auch hier ist jedoch noch etwa ein Zehntel der Erythrocyten hellblau; auch einige farblose kommen vor. Die Hauptmasse der Erythrocyten ist intensiv rot; Agar ungefärbt. Die zentralen roten Erythrocyten möchte man unbedingt als intakt ansprechen. Man sieht ihnen bei dieser Formolkonzentration noch nicht an, wie schwer sie tatsächlich verändert sind.

2. Makroskopischer Schnittbefund: Auf eine etwa 1 mm breite blaue Randzone folgt ein etwas breiterer roten Streifen; das Zentrum, die Hauptmasse des Schnittes einnehmend, ist blau. In der Randzone sind die Erythrocyten blau, der Agar ist ziemlich intensiv blau. Der innere Teil dieser Randzone wird von gelben Erythrocyten eingenommen. In der makroskopisch roten Zone finden sich rote und gelbe Erythrocyten etwa zu gleichen Teilen gemischt; Agar ungefärbt. Im Zentrum sind die Erythrocyten blau, einige rot. Agar deutlich leicht blau.

3. Auf eine schmale äußere Zone blaßblauer bis beinahe schattenhafter Erythrocyten und intensiv blauen Agars folgt eine etwas breitere Zone, in der sich neben ganz blassen Erythrocyten, die zum großen Teil als Schatten anzusprechen sind, zahlreiche, etwas gequollene, fein granuläre rote finden. Agar hier heller, jedoch noch deutlich blau. Im Zentrum alle Erythrocyten blau, Agar wieder etwas dunkler.

4. Keine Randbildung mehr. Erythrocyten überall blau, die Mehrzahl mit gut erhaltener Form. Ausgelaugte Erythrocyten nicht selten. Der Erhaltungszustand der Erythrocyten ist in den Randteilen ein schlechterer als im Zentrum. Agar intensiv blau.

5. Erythrocyten blau, zum großen Teil stark ausgelaugt. In den Randteilen ist diese Auslaugung viel intensiver, bis zur vollkommenen Schattenbildung gehend. Agar noch intensiver blau.

6. Fast alle Erythrocyten sind zerstört. In dem wieder etwas weniger intensiv blauen Agar sind ihre schattenhaften Konturen nur undeutlich zu erkennen; gefärbt sind sie nur insofern, als der den Agar gleichmäßig durchsetzende Blutfarbstoff sich auch innerhalb ihrer Konturen noch findet. Nur vereinzelt sind Erythrocyten, blau gefärbt, mehr oder weniger gut erhalten.

7. Gleicher Befund.

8. Im Zentrum sind wieder einige Erythrocyten besser erhalten; die Hauptmasse noch schattenhaft. Agar in breiter Randzone hellblau, im Zentrum intensiv blau.

9. In ziemlich breiter Randzone sind fast alle Erythrocyten zerstört, der Agar ist hellblau. Im Zentrum zeigen die Erythrocyten wieder gut erhaltene Form und sind meist blau gefärbt; einzelne sind rot. Agar etwas intensiver blau als in der Peripherie, jedoch viel heller als in den vorhergehenden Präparaten.

10. Peripherie etwas schmäler, gleich schwer verändert; weiterhin in einer etwas breiteren Zone Erythrocyten gut erhalten, blau, Agar leicht blau. Im Zentrum finden sich neben den die Mehrzahl bildenden blauen Erythrocyten nicht selten rote. Agar fast farblos.

11. Peripherie wie im vorigen Präparat. Darauf eine etwas schmälere Zone blauer Erythrocyten, mit deutlich blau gefärbtem Agar. Im Zentrum ist die Mehrzahl der Erythrocyten rot, daneben blaue sowie nicht ganz selten gelbe. Agar ungefärbt.

Kohlensäurebehandlung hat also eine sehr ausgesprochene Resistenzverminderung der Erythrocyten gegenüber verdünnten, nicht fixierenden Formollösungen zur Folge. Bei Behandlung mit Kohlensäure-Ringer finden wir bei Verdünnung 6, 7 und 8 völlige bzw. fast völlige Hämolyse. Mikroskopisch äußert sie sich in völligem Verlust des Farbstoffs unter Zurückbleiben der sog. Stromata, makroskopisch dadurch, daß der Agarblock lackfarben, die Formollösung durch das ausgetretene Hämoglobin rot wird. Weniger hochgradig sind die Veränderungen bei den noch schwächeren sowie bei den stärkeren Konzentrationen. Aber die Veränderungen gegenüber nicht behandeltem Blut fehlen auch bei der schwächsten Formolverdünnung nicht und finden sich andererseits schon bei recht starken Konzentrationen. Sehr wichtig sind bei der vergleichenden Betrachtung des Verhaltens nicht vorbehandelten und mit Kohlensäure vorbehandelten Blutes gegenüber verdünnter Formollösungen zwei Tatsachen:

Auch Erythrocyten, die nicht mit Kohlensäure vorbehandelt sind, färben sich blau, wenn die auf sie einwirkende Formollösung schwach genug ist.

Auch Erythrocyten, die mit Kohlensäure vorbehandelt sind, färben sich rot, wenn die auf sie einwirkende Formollösung stark genug ist.

Von den durch verdünnte Formollösungen an Erythrocyten bewirkten Veränderungen ist die schwerste die vollständige Hämolyse, der völlige Farbstoffaustritt unter Zurückbleiben der Stromata.

Von dieser schwersten Veränderung ausgehend, können wir die durch Formol bedingten Veränderungen der Schwere nach in folgende Reihe ordnen:

Hochgradiger Farbstoffaustritt — hochgradige Auslaugung der Erythrocyten. Mäßiger Farbstoffaustritt — mäßige Auslaugung der Erythrocyten. Geringer Farbstoffaustritt — Blaufärbung der Erythrocyten. Fast fehlender Farbstoffaustritt — Blaufärbung der Erythrocyten. Kein Farbstoffaustritt — (blaue) gelbblaue, blaugelbe oder rein gelbe (Eosin und Methylblau ablehnende) Erythrocyten. Kein Farbstoffaustritt — rote (intakte) Erythrocyten.

Aus den Erythrocyten ausgetretener Blutfarbstoff färbt sich nach *Alzheimer* stets blau, gleichgültig, auf welchem Wege die Hämolyse erfolgt ist. Dies ist ein Unterschied des extraglobulären Hämoglobins gegenüber dem Farbstoffprotein des intakten Erythrocyten. Ein zweiter Unterschied ist der, daß im Körper des Lebenden ausgetretenes Hämoglobin nicht mehr der respiratorischen Funktion dient, sondern als eine „Res aliena“ durch die Nieren ausgeschieden wird. Von großem Interesse dürfte das färberische Verhalten des Blutes jener Tiere sein, bei denen der Farbstoff physiologischerweise nicht an körperliche Elemente gebunden ist, sondern in der Blutflüssigkeit gelöst die Respiration vermittelt.

Aber nicht nur das ausgetretene Hämoglobin färbt sich blau. Ist die hämolysierende Wirkung schwächer, so tritt nur ein mehr oder minder großer Teil des Farbstoffes aus; der Erythrocyt bleibt dementsprechend mehr oder weniger hämoglobinhaltig (unvollständigen Hämolyse). Auch dieses intraglobuläre Hämoglobin färbt sich blau. Die Blaufärbung der Erythrocyten ist also die eine Teilerscheinung der unvollständigen Hämolyse (die andere ist der Farbstoffaustritt).

Auch bei völlig fehlendem (optisch nachweisbarem) Hämoglobin-austritt können Erythrocyten blau sein; häufiger nehmen sie dann jedoch das Methylblau in so geringer Menge an, daß es mit der gelben Eigenfarbe eine mehr nach der einen oder anderen Seite neigende Mischfarbe gibt, oder sie lehnen es überhaupt ab und sind daher rein gelb. Dies ist das erste morphologisch-färberisch nachweisbare Stadium der Hämolyse: noch kein Farbstoffaustritt, nicht mehr Annahme des Eosins, noch keine oder nur geringe Annahme des Methylblaus (prähämolytische Veränderung).

Wir glauben also, daß die Wirkungen des Formols auf Erythrocyten sich als die verschiedenen Grade der Hämolyse von den ersten Anfängen bis zur vollständigen Auslaugung deuten lassen. Die Hämolyse tritt sowohl bei fixierenden als auch bei schwächeren nicht fixierenden Formolkonzentrationen ein. Es wird von Interesse sein, mit der Wirkung des Formols die eines Stoffes mit ähnlicher Doppelnatur zu vergleichen. Sublimat fixiert in starker, hämolysiert in schwacher Konzentration. Die fixierende Konzentration reicht bis zur Verdünnung 1 : 1200. Bei 1 : 1600 beginnt die Hämolyse; bei 1 : 8000 hat sie fast ihren Höhepunkt

erreicht, den sie bis 1 : 80 000 beibehält. Von da an nimmt die hämolysierende Kraft wieder ab; die Verdünnung 1 : 200 000 hämolysiert nicht mehr (*Bechhold*). Die Wirkung des Sublimats auf die Erythrocyten wird nun noch durch die Einbettung in Agar kompliziert. Bringen wir den Blutagarblock etwa in eine konzentrierte Sublimat-Ringerlösung, so sind damit nicht sämtliche eingeschlossene Erythrocyten sofort der Wirkung dieser konzentrierten Lösung ausgesetzt. Die Sublimatlösung verliert während des Eindiffundierens an Konzentration. Von einer gewissen Blocktiefe ab wird die noch fixierende Konzentration unterschritten sein, und die hämolysierende Wirkung kommt nun zur Geltung. Dieser Zustand ist jedoch nur vorübergehend. Mit fortschreitendem Konzentrationsausgleich wird auch im Zentrum die fixierende Konzentration erreicht und überschritten. Damit wird die im Gang befindliche Hämolyse unterbrochen, die Erythrocyten werden in dem erreichten Stadium der Hämolyse fixiert. Bringt man den Blutagarblock in schwächere Sublimatkonzentrationen, so werden wir die periphere Fixierung nur in schmälerer Randzone, das Gebiet der zentralen Hämolysierung entsprechend größer und ihre Intensität gesteigert erwarten. Denn das Sublimat gelangt nicht nur von vornherein in geringerer Konzentration in das Blockzentrum, sondern die Konzentration steigt auch entsprechend dem geringeren Gefälle langsamer an; beides führt dazu, daß die hämolysierende Konzentration erst nach längerer Einwirkung durch die fixierende ersetzt wird. Hämolysierende Sublimatlösungen werden den Blutblock umgekehrt beeinflussen: sie bewirken peripher Hämolyse, während im Zentrum das Sublimat auch die hämolysierende Konzentration nicht erreicht und die Erythrocyten daher unverändert bleiben.

Es sei nun über den Befund der Behandlung von Blutagarblöcken mit Sublimatlösungen absteigender Konzentration berichtet. Als Ausgangsmaterial diente 4 proz. Sublimat-Ringerlösung. Die mit Ringer angesetzten Verdünnungen waren folgende:

Nr.	4 proz. Subli- mat-Ringerlösung Teile	Ringer Teile	Sublimatgehalt in Prozenten
1	1	0	4,0000
2	1	1	2,0000
3	1	2	1,3333
4	1	4	0,8000
5	1	9	0,4000
6	1	29	0,1333
7	1	59	0,0667
8	1	119	0,0333
9	1	199	0,0200
10	1	799	0,0050
11	1	∞	0,0000

Befund:

1. Erythrocyten in einer etwa einem Viertel der gesamten Blockbreite entsprechenden Randzone rot; Agar völlig ungefärbt. An die innere Grenze dieser roten Zone schließt sich ein schmaler Streifen nicht gefärbter (gelber) Erythrocyten; zwischen ihnen rote in mäßiger Zahl. Darauf folgt, etwa ein Drittel der Breite der äußeren roten Zone betragend, ein Streifen mit blauen, gut erhaltenen Erythrocyten und ziemlich intensiver Agarblauung. Im ganzen einwärts gelegenen Zentrum blaue, wohl erhaltene Erythrocyten und leichte Blautönung des Agars. Makroskopisch zeigt der gefärbte Schnitt in sehr prägnanter Dreiteilung einen hellroten Rand, dann einen ziemlich dunkelblauen Streifen, schließlich das hellblaue Zentrum.

2. Qualitativ gleicher Befund; der rote Rand ist jedoch schmäler, die Blaufärbung des Agars im Zentrum etwas deutlicher.

3. Roter Rand noch schmäler. Zentral in einem Oval, dessen Querdurchmesser etwa ein Viertel der Blockbreite beträgt, unter den blauen ziemlich zahlreiche rote Erythrocyten (etwa ein Drittel der Gesamtmenge); Agar hier im Gegensatz zum übrigen Zentrum kaum gefärbt.

4. Roter Rand noch schmäler. Das zentrale Oval ist etwas größer geworden; rote Erythrocyten bilden hier die Mehrzahl; Agarfärbung eben angedeutet. Makroskopisch ist dieser Bezirk deutlich als rotes Oval zu erkennen.

5. Der rote Rand hat kaum mehr ein Fünftel der Breite von Nr. 1. Weiterhin im wesentlichen gleicher Befund wie bisher: eine schmale Zone ungefärbter Erythrocyten, dann eine etwas breitere Zone blauer in einem etwas intensiver blauen Agar, dann blaue Erythrocyten in sehr blaßblauem Agar. Eine eigentümliche Veränderung ist mit dem roten Oval vorgegangen: es lässt seinerseits wieder einen Rand und ein Zentrum unterscheiden. Der Rand, etwas breiter als der äußere rote, zeigt überwiegend rote neben blaßblauen Erythrocyten und wenig gefärbten Agar. Im Zentrum ist weitaus die Mehrzahl der Erythrocyten völlig ausgelaugt bei oft sehr gut erhaltenen Randkonturen. Schätzungsweise ein Zehntel der Erythrocyten ist wohl erhalten, rot gefärbt. Agar deutlich blau. Makroskopisch sieht man einen das zentrale Oval begrenzenden, dem äußeren roten Rand konzentrischen roten Streifen.

6. Äußerer roter Rand noch schmäler, wird von dem folgenden Streifen farbloser Erythrocyten an Breite bereits etwas übertroffen; Agar in beiden Zonen ungefärbt. Anschließend in etwa fünffacher Breite blaue Erythrocyten und deutlich gefärbter Agar. Im ganzen Zentrum völlige Zerstörung der Erythrocyten und intensiv blauer Agar, in dem Zellschatten nur undeutlich zu erkennen sind; nur in der Peripherie des Zerstörungsbezirkes finden sich zerstreute rote Erythrocyten; makroskopisch sind diese nicht mehr als roter Streifen zu erkennen.

7. Peripher in etwa der Hälfte der Breite des roten Randes bei Nr. 1 blaue Erythrocyten und ziemlich intensiv blauer Agar. Im Zentrum ist die überwiegende Mehrzahl der Erythrocyten zerstört, nur spärlich finden sich gut erhaltene blaue und rote. Agar intensiv blau. Ganz zentral sind in einem kleinen Oval die meisten Erythrocyten erhalten, blau. Agar auch hier intensiv blau.

8. In der Peripherie in etwa zwei Dritteln des vorhergehenden Blocks Erythrocyten blau, Agar ziemlich intensiv blau. Hierauf in breiter Zone Zerstörung der meisten Erythrocyten; spärliche erhalten, blau. Erwähnt sei, daß, wie auch bei Präparat 6 und 7, im Bereich der Aufliegefläche sich an der Peripherie die gleiche weitgehende Zellzerstörung findet wie sonst in der auf die Peripherie folgenden Zone. Dann folgt in gleicher Breite wie peripher ein Streifen blauer, dann ein etwas schmälerer Streifen hochgradig ausgelaugter, beinahe schattenhafter Erythrocyten. Dieser letztere Streifen umschließt ein ovales Feld mit roten Erythrocyten, denen zuerst noch ziemlich zahlreiche, dann spärliche blaßblaue, beinahe ungefärbte

sowie einige intensiv blaue beigemischt sind. Agar in diesem zentralen Feld ungefärbt, sonst ziemlich intensiv blau.

Makroskopisch lassen sich bei günstiger Beleuchtung alle diese Einzelheiten erkennen: der äußere blaue, nicht durchscheinende (deckfarbene), an der Aufliegefläche unterbrochene Rand, gefolgt von einem breiten blauen durchscheinenden (lackfarbenen) Bezirk, der zweite deckfarbene blaue Streifen, der anschließende lackfarbene Streifen und das rote nicht durchscheinende (deckfarbene) Zentrum.

9. In der Peripherie in etwa einem Viertel der Blockbreite Zerstörung der meisten Erythrocyten. Einige erhalten, blau; bemerkenswerterweise ist ihre Zahl in Oberflächennähe wesentlich größer: Der Ausdruck dafür, daß das eindringende Sublimat zunächst noch konzentriert genug war, die Hämolyse wenigstens eines kleinen Teils der Zellen in relativ frühem Stadium durch die Fixierung zu unterbrechen; für die Mehrzahl der peripheren und fast aller tiefer gelegenen Zellen reichte jedoch diese eben noch vorhandene fixierende Kraft nicht mehr aus. Ein weiterer Peripheriebefund ist sehr beachtenswert: im Bereich des durch die plane und künstliche Grenzfläche gebildeten rechten und des durch die plane und konvexe Grenzfläche gebildeten spitzen Winkels sind fast alle Erythrocyten erhalten, blau. Es sind jene Stellen, gegen welche die Sublimatlösung von 2 Seiten her (umfassend) vordringen konnte; hier reichte die fixierende Kraft noch aus, die Hämolyse der meisten Erythrocyten im Anfangsstadium aufzuhalten. Im Bereich des durch die konvexe und künstliche Grenzfläche gebildeten rechten Winkels fehlt diese bessere Erhaltung der Zellen vollständig. Die konvexe Grenzfläche hatte als Aufliegefläche im Sublimat gedient, so daß es hier nicht zu einer Wirkungsverstärkung infolge Eindiffundierens des Sublimats von 2 Seiten her gekommen ist. Auf die breite Zerstörungszone folgt ein ziemlich schmaler Streifen gut erhalten blauer Erythrocyten und ziemlich intensiv blauen Agars. Einwärts davon fast alle Erythrocyten rot, einige wenige gelb oder hellblau; Agar nicht gefärbt. Erwähnt sei noch, daß dieser zentrale Bezirk stark exzentrisch liegt, gegen die Aufliegefläche herangezogen.

10. Die Peripherie zeigt in kaum der Hälfte der Breite des vorhergehenden Präparats Zerstörung fast aller Zellen bei intensiver Agarblaufärbung. Dieser Befund gilt auch für den Bereich sämtlicher Winkel; eine fixierende Wirkung bleibt bei dieser Sublimatkonzentration auch bei konzentrischem Eindiffundieren aus, so daß die hämolysierende Komponente ungehemmt zur Geltung kommt. Auf die 1. Zone folgt eine etwas schmälere mit erhaltenen blauen Erythrocyten und intensiv blauem Agar. Im Zentrum, das wesentlich größer ist als im vorigen Präparat, sind alle Erythrocyten rot, der Agar ist ungefärbt.

11. Kontrollpräparat mit dem von früher her bekannten Befund.

Das wichtigste Ergebnis des Sublimatversuchs ist die Tatsache, daß auch ohne Kohlensäurebehandlung Blaufärbung zentraler Erythrocyten zu erreichen ist unter Bedingungen, die eindeutig auf Hämolyse hinweisen. Man kann durch Wechseln der Konzentration die Bedingungen so variiieren, daß die Hämolyse, vollständig oder unvollständig, in der Mitte oder an den Rändern eintritt.

Zwei weitere Punkte seien hier noch erwähnt: Bei peripher eben noch fixierender, zentral total hämolysierender Sublimatkonzentration gleicht die Peripherie im Bereich der Aufliegefläche dem Zentrum, d. h. die Hämolyse ist hier ebenfalls vollständig. Dieser Befund erinnert an den entsprechenden bei der Formolfixierung, das Ausbleiben der Hämolyse an der Aufliegefläche und im Zentrum; in beiden Fällen eine Folge der

Konzentrationsverminderung beim Eindringen in den Agar und der Eindiffundierungshemmung durch das Aufliegen, das eine Mal mit zellerhaltender, das andere Mal mit zellzerstörender Wirkung.

Dann sei hingewiesen auf einen besonders prägnant bei Präparat 5 und 8 erhobenen Befund. Bei Präparat 5 folgte von außen nach innen: Fixierung, leichte Hämolyse, Fixierung, starke Hämolyse. Wir müssen annehmen, daß die zunächst für die Fixierung hinreichende Konzentration rasch schwächer wurde, wieder anstieg und dann rapid abfiel. Bei Präparat 8 fanden wir: geringe Hämolyse, fast komplett Hämolyse, geringe Hämolyse, fast komplett Hämolyse, intakte Erythrocyten; d. h. die zur Fixierung noch ausreichende Anfangskonzentration fällt ab, steigt wieder zur gleichen Wirkungsstärke an, fällt wieder ab und verliert nun bald auch die hämolysierende Wirkung. (Man vergleiche auch die Topographie der Befunde in Präparat 3, 4, 6 und 7; ferner S. 565, Präparat 2.)

Wie das Verhalten der Erythrocyten zeigt, findet sich beim Eindiffundieren des Sublimats in den Agar nicht ein von außen nach innen zunehmender Konzentrationsabfall, sondern es wechseln konzentrisch Zonen höherer mit Zonen niedriger Konzentration; ein Vorgang, der mit der Bildung der Liesegangschen Ringe in Parallele zu setzen ist. Nur dienen hier als Indicator für die Art des Eindiffundierens nicht ein im Gel gelöstes Krystallloid, sondern überlebende Zellen, und das in konzentrischen Ringen angeordnete Resultat ist nicht eine durch ihre Teilchengröße und Farbe wahrnehmbare chemische Verbindung, sondern die morphologisch-färberisch nachweisbare Reaktion dieser Zellen auf ein Gift.

Haben wir es bei der Sublimathämolyse an der Hand, mit der Konzentration die Hämolysierungsstärke in jeder gewünschten Weise abzustufen, so vermögen wir bei einer anderen Art von Hämolyse ein diese hemmendes Moment in seiner Wirkungsintensität beliebig zu beeinflussen, so daß auch hier das Ziel, die verschiedenen Grade der Hämolyse zu bekommen, erreicht wird. Es ist die Hämolyse durch Gefrieren und Wiederauftauen. Schneiden wir auf dem Gefriermikrotom einen unfixierten Blutagarblock, so tritt vollständige Hämolyse ein. Schneiden wir den Block nach vollendeter Fixierung, so bleibt die Hämolyse durch Gefrieren und Wiederauftauen ebenso aus wie etwa die durch destilliertes Wasser. Schneiden wir den Block dagegen vor vollendeter Fixierung, so tritt noch Hämolyse ein; ihr Ausmaß wird um so geringer sein, je länger, um so größer, je kürzer die Formolwirkung gedauert hat.

In folgendem sei über die fortschreitende Hemmung der Hämolyse durch Gefrieren und Wiederauftauen durch das Liegen in Formol kurz berichtet (Zimmertemperatur, 8% Formaldehydgehalt).

1. Gefrierschnitt des unfixierten Blutagarblocks:

Fast alle Erythrocyten zerstört; nur spärliche blaugefärbte Zellen erhalten. Agar intensiv blau, stark und unregelmäßig zerrissen.

2. Formol 30 Minuten:

Die Peripherie zeigt außen einen ganz schmalen Saum ziemlich gut erhalten blauer Erythrocyten, hierauf hochgradig ausgelaugte Elemente und starke Agarbläuung. Weiterhin Erythrocyten zunächst gut erhalten, blau, Agar fast farblos. Nach der Tiefe zunehmende Auslaugung und Agarbläuung. In einem ausgedehnten zentralen Gebiet Erythrocyten fast schattenhaft, Agar intensiv blau.

3. Formol 1½ Stunden:

Erythrocyten in der Peripherie außen blaurot bis rot, innen heller oder dunkler blau, ziemlich gut erhalten. Agar hellblau. Erythrocyten im Zentrum gut erhalten, meist ungefärbt, wenige blau; Agar farblos.

4. Formol 7½ Stunden:

Peripherie ohne wesentliche Veränderung. Im Zentrum folgt auf einen Streifen ungefärbter Erythrocyten eine Zone mit ungefärbten und roten zu gleichen Teilen. In der nach innen anschließenden Hauptmasse des Zentrums sind die meisten Zellen ungefärbt, einige blau, einzelne rot. Agar ungefärbt.

5. Formol 14 Stunden:

In der Peripherieaußenzone ein schmaler Saum roter Erythrocyten; in der Innenzone etwa 1 Drittel dunkelblauer, 2 Drittel sehr blaßblauer, ziemlich ausgelaugter Formen. Agar stark blau. Das Zentrum zeigt zunächst in einem breiten Streifen rote, dann farblose Erythrocyten. Agar ungefärbt.

6. Formol 24 Stunden:

Peripherie unverändert. Alle zentralen Erythrocyten sind rot, bei ungefärbtem Agar.

Die Hämolyse, durch Gefrieren und Auftauern, durch vorhergehende Formoleinwirkung in steigendem Grade gehemmt, zeigt bei den so erreichten Abstufungen ihrer Stärke den erwarteten Befund.

Zusammenfassend möchte ich folgende mikroskopisch faßbare Stadien im Ablauf der Hämolyse unterscheiden:

Nr.	Bezeichnung	Hämoglobin-austritt	Erythrocytenbefund
1	unveränderte rote Blutzellen	—	rot
2	prähämolytische Veränderung	—	gelb, blaugelb, gelbblau (blau?)
3	beginnende Hämolyse	Spur	blau
4	leichte Hämolyse	gering	blau, geringe Auslaugung
4	allmählich übergehend in	unvollständige Hämolyse	blaßblau, starke Auslaugung
5	hochgradige Hämolyse	reichlich	blaßblau, starke Auslaugung
6	vollständige Hämolyse . .	vollständig	Schatten

Zwei Erscheinungen kennzeichnen also den mikroskopischen Befund bei unvollständiger Hämolyse: ein Ortswechsel und Färbbarkeitswechsel des Blutfarbstoffs. Der Ortswechsel betrifft nur einen Teil, der Färbbarkeitswechsel dagegen den gesamten Blutfarbstoff, sowohl den ausgetretenen als den in der Zelle verbliebenen, auch dann, wenn der letztere bei weitem überwiegt. Eine Färbbarkeitsänderung (Ablehnung

des Eosins) zeigt sich im Anfangsstadium der Hämolyse auch ohne nachweisbaren Farbstoffaustritt.

Die Färbbarkeitsumstimmung der roten Blutkörperchen durch Kohlensäure gewinnt nun eine ganz andere Bedeutung: sie ist der Ausdruck einer leichten Formolhämolyse, die ohne die vorausgegangene Behandlung ausbleibt; d. h., Kohlensäure erzeugt eine Widerstandsverminderung der Erythrocyten gegenüber Formol, eine Hämolysebereitschaft, die im Formol offenbar wird.

Die Wirkung verschieden starker Formollösungen auf die zentralen Erythrocyten des Agarblocks können wir zwecks rascher Orientierung durch ein Koordinatensystem darstellen, wobei auf der Abszisse die Formolkonzentration, ausgedrückt durch die Logarithmen des Prozentgehalts Formaldehyd¹⁾, auf der Ordinate der Erythrocytenbefund aufgetragen wird. Der bei einer bestimmten Formolkonzentration erhobene Zellbefund ist der hämolysierenden Kraft der Formollösung gleichlaufend, der Widerstandsfähigkeit der Erythrocyten entgegengesetzt; er ist der Ausdruck der individuellen Resistenz gegen die angewandte Formollösung. Die Gesamtheit der Zellbefunde bei der Konzentration nach angeordneten Formollösungen ergibt die Resistenzkurve. Unterschiede der Widerstandskurven nichtbehandelter und behandelter Erythrocyten entsprechen dem Ausmaß der Widerstandsveränderung durch diese Behandlung.

Markierung des Zellbefunds auf einem Punkt zwischen rot und farblos oder farblos und blau bedeutet Mischung roter und farbloser bzw. farbloser und blauer Erythrocyten in entsprechendem Verhältnis²⁾; Verschiebung des Zellbefundes zwischen blau und vollständiger Hämolyse dagegen bedeutet zunehmende bzw. abnehmende Auslaugung der Erythrocyten und entsprechend reichlicheren oder geringeren Farbstoffaustritt.

In Abb. 1 sei der oben ausführlich beschriebene Formolhämolyseversuch dargestellt. Die ausgezogene Linie (a) ist die Widerstandskurve nicht vorbehandelter, die gestrichelte (b) in Kohlensäureatmosphäre, die strichpunktiierte (c) in Kohlensäure-Ringer vorbehandelter Erythrocyten.

Die 3 Kurven zeigen die gewaltige Resistenzverminderung durch Kohlensäure, die bei Behandlung in Kohlensäure-Ringer noch viel weiter geht als bei Behandlung in Kohlensäureatmosphäre. Weiter erweisen

¹⁾ Die Formolkonzentrationen 1—11 sind hierbei notwendig in umgekehrter Reihenfolge (mit 11 beginnend) angeordnet.

²⁾ Es sei nochmals betont, daß diese Kurven nur ein Hilfsmittel zur raschen vorläufigen Orientierung sein können. Wie ein Vergleich des Kurvenverlaufs in Abb. 1 mit dem früher gebrachten Befund zeigt, sind gerade die ersten Anfänge der Hämolyse kein günstiges Objekt der graphischen Darstellung.

sich Formollösung 1 und 2 zur Untersuchung auf Kohlensäureaufnahme ungeeignet; denn bei diesen Konzentrationen kommt der Resistenzunterschied zwischen dem unbehandelten und dem der Kohlensäureatmosphäre ausgesetzten Blut noch nicht zur Geltung. Von Konzentration 10 an zeigt Kurve *b* wieder annähernd normale Resistenz: bei der nach Abschluß der 24ständigen Formolbehandlung erfolgenden Fixierung durch Formolkonzentration 3 ist eine nennenswerte Hämolyse nicht mehr eingetreten, da die Hämolysebereitschaft gegen Konzentration 3 infolge Abgabe der Kohlensäure geschwunden ist. Hätten wir zur Fixierung Konzentration 2 genommen, so könnten wir diesen Schluß nicht ziehen. Die durch Konzentration 7 hämolysierten Erythrocyten würden es selbstverständlich auch bei Fixierung mit Konzentration 2 bleiben; denn Hämolyse ist irreversibel. Mit anderen Worten: Formol 3 ist eine Reagens auf Hämolysebereitschaft, Formol 2 fixiert das gegebene Stadium der Hämolyse. Aus der Irreversibilität der Hämolyse ergibt sich auch, daß in der Kohlensäureatmosphäre, vor Beginn der Formolbehandlung, noch keine Hämolyse eingetreten ist; denn der Befund des am besten erhaltenen Blockes muß bei Abbruch der Gasbehandlung der Befund aller Blöcke gewesen sein. Aus Kurve *c* läßt sich nicht ersehen, ob die leichte Hämolyse bei Block 1, 2, 10 und 11 bereits während des Verweilens in Kohlensäure-Ringer erfolgt oder durch Auswirkung einer Hämolysebereitschaft in Formol bzw. eine Nachhämolyse in Ringer zu erklären ist.

Abb. 2 zeigt Resistenzkurven gewaschenen Blutes, das als Ringer-aufschwemmung in der Waschflasche von Kohlensäure, Sauerstoff bzw. Wasserstoff durchperlt wurde. Nach der Gasbehandlung Agareinbettung, hierauf Formolbehandlung. Fixierung durch Formol 2.

- Kohlensäurebehandlung,
- Sauerstoffbehandlung,
- Wasserstoffbehandlung.

Dauer der Gasbehandlung 20 Minuten.

Abb. 3 zeigt die Kurven gleich behandelten Blutes, mit dem Unterschied, daß die Gaseinwirkung 2 Stunden dauerte.

Sehr bemerkenswert ist der Unterschied in Agar eingeschlossen und frei mit Kohlensäure-Ringer behandelter Erythrocyten; die entstehende Hämolysebereitschaft ist bei diesen wesentlich geringer als bei jenen.

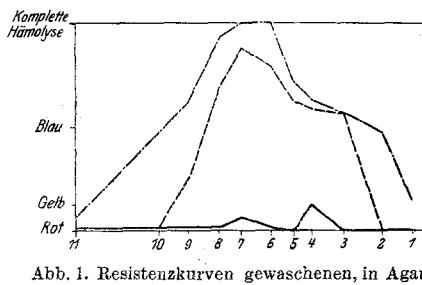


Abb. 1. Resistenzkurven gewaschenen, in Agar eingebetteten Blutes.

— = a = unheizt;
- - - = b = 1 Std. Kohlensäureatmosphäre;
- · - - = c = 1 Std. Kohlensäure-Ringer.

Kurve *a* (Abb. 2) ergibt von Konzentration 8 an Aufhebung der Hämolysebereitschaft für Konzentration 2. Kurve *a* (Abb. 3) beweist bei Block 9 und 10 nicht Aufhebung der Hämolysebereitschaft; denn diese ist auch unmittelbar nach Abschluß der Kohlensäurebehandlung in Konzentration 2 nicht manifest geworden. Die Untersuchung auf Hämolysebereitschaft hätte in diesem Falle mit Konzentration 4—7 erfolgen müssen. Der Befund bei Block 11 (Abb. 3) ist der Ausdruck einer leichten Nachhämolyse (spontanes Manifestwerden der Hämolysebereitschaft in Ringer). Ein Vergleich zwischen Kurve *b* und *c* (Abb. 3) zeigt, daß zur Untersuchung auf Hämolysebereitschaft alle angewandten Formolkonzentrationen nötig sind: Behandlung der Erythrocyten mit beliebigen Flüssigkeiten, Lösungen, Gasen, Dämpfen, die nicht zur Fixierung oder vollständiger Hämolyse führt, muß von lückenloser Formolbehandlung gefolgt sein.

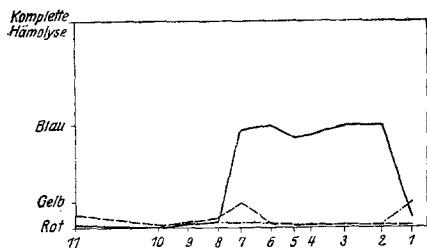


Abb. 2. Resistenzkurven bei Gasbehandlung der Erythrocyten als Ringeraufschwemmung. Einbettung nach der Gasbehandlung.

— = *a* = Kohlensäurebehandlung
 - - - = *b* = Sauerstoffbehandlung
 - - - - = *c* = Wasserstoffbehandlung } 20 Min.

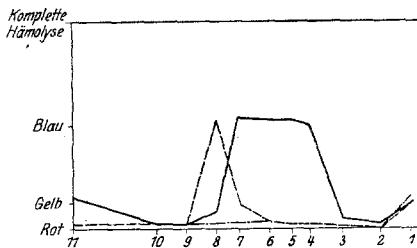


Abb. 3. Resistenzkurven nach zweistündiger Gasbehandlung; *a*, *b* und *c* wie in Abb. 2. Die Kurve *c* verläuft zwischen 10 u. 11 zusammen mit Kurve *b*.

Es sei hier nur kurz erwähnt, daß Kohlensäure auch die Resistenz der Erythrocyten gegen Sublimathämolyse vermindert. Führen wir den oben gebrachten Sublimathämolyseversuch mit Blutblöcken aus, die mit Kohlensäure behandelt sind, so ergibt sich ebenfalls eine gesteigerte Hämolysebereitschaft: die Hämolyse ist stärker, und sie findet sich schon bei höheren und noch bei geringeren Konzentrationen.

Das Ergebnis unserer Ausführungen zusammenfassend, können wir sagen:

Die Färbbarkeitsumstimmung der Erythrocyten durch Kohlensäure ist ein zusammengesetzter Vorgang, bestehend aus:

1. Steigerung der normalerweise geringen Hämolysebereitschaft der roten Blutzellen gegenüber Formol.

2. Hämolyse in einem nun zum Haemolyticum gewordenen Formol geeigneter Konzentration.

Auf diesem Umweg führt Kohlensäurebehandlung zur Färbbarkeitsumstimmung der roten Blutkörperchen. Umgekehrt ist Blaufärbung

nach vorausgegangener Kohlensäurebehandlung mittelbar ein Zeichen der Kohlensäureaufnahme und damit der morphologisch-färberische Nachweis einer Partialfunktion der Erythrocyten.

Zusammenfassung.

Der histologische Befund bei Hämolyse ist ein zweifacher: Ortswechsel und Färbbarkeitswechsel des Blutfarbstoffes. Bei der vollständigen Hämolyse betreffen diese Veränderungen das gesamte Hämoglobin. Bei der unvollständigen finden wir Ortswechsel eines Teiles, dagegen Färbbarkeitswechsel ebenfalls des gesamten Hämoglobins, des ausgetretenen und des in den Zellen verbliebenen, wie groß der Anteil des letzteren auch sein möge. Färbbarkeitswechsel findet sich auch ohne Farbstoffaustritt: Prähämolytische Veränderung.

Erythrocyten zeigen verdünnten isotonischen Formollösungen gegenüber eine leichte Hämolysebereitschaft.

Durch Kohlensäureaufnahme wird diese Hämolysebereitschaft gesteigert: Die Formolhämolyse tritt stärker und in größerer Konzentrationsbreite ein.

Die durch Kohlensäureeinwirkung bei Fixierung in 8 proz. Formol erzielte Färbbarkeitsumstimmung der roten Blutkörperchen ist Teilerscheinung einer leichten Hämolyse.

Herrn Prof. Pütter möchte ich für seine bereitwillige Beratung be treffs der graphischen Darstellung auch an dieser Stelle meinen auf richtigsten Dank aussprechen.
