

Über Oxonausscheidung in die quergestreifte Muskulatur.

Zugleich ein Beitrag zur Bedeutung einiger Faktoren in oxydativen und lytischen Systemen.

Von

Dr. W. Loele.

(Staatliche Landesstelle für öffentliche Gesundheitspflege Dresden.)

(Eingegangen am 7. Februar 1930.)

Die quergestreifte Muskulatur ist reich an Indophenoloxidasen (labile Oxydasen nach *v. Gierke*, Geweboxydasen nach *Graeff*). Nur in frischen Präparaten und bei Verwendung alkalifreier α -Naphthollösung in der Indophenolblausynthese sind die Oxydasen nachweisbar und verraten sich durch Blaufärbung feinster Körnchen im interfibrillären Sarkoplasma (meist in Höhe der anisotropen Scheiben).

Nach *Katsunuma* ist die Oxydasenmenge von dem Gehalt des Muskels an roten und weißen Muskelfasern abhängig. Der leichter reizbare und schneller ermüdende weiße Muskel ist ärmer an Oxydasen als der rote. *Graeff* und *Ikeda* nehmen an, daß der Gehalt des Muskels an Oxydasegranula der Größe der Funktion des Muskels proportional ist. Völligen Oxydaseschwund fand *Graeff* und nach ihm *Katsunuma* im Muskel bei Eklampsie, Oxydasemangel *Katsunuma* bei Kröten im Winterschlaf. Besonders reichlich Oxydasen enthalten die Muskelfasern des Reizleitungsentrums des Herzens.

Nach diesen Befunden erscheinen die labilen Indophenoloxidasen als Stoffe (Reservevorräte), deren Anwesenheit die Erregbarkeit des normalen Muskels herabsetzt und die Leistungsfähigkeit steigert. Vielleicht bestehen auch gewisse Beziehungen zwischen Färbung und Oxonengehalt.

Nicht nachweisbar sind im normalen Muskel stabile Indophenoloxidasen, Naphtholoxidasen, Naphtholperoxydasen und Benzidinperoxydasen, dagegen erhält man Oxydationsreaktionen mit Paraphenyldiamin. Mit der quantitativen Methode nach *Stämmler* bestimmt, ist die Paraphenyldiaminreaktion in Muskelauszügen schwächer als die Nadireaktion. In Zupfpräparaten des Muskels erhält man nur eine diffuse Braunfärbung, selten eigenartige, zackige, unregelmäßig verteilte Körnchen, niemals eine gleichmäßige Granulierung wie mit der

Indophenolmethode. Bei pathologischen Veränderungen des Muskels sind mitunter alle oben erwähnten Oxone im Muskel nachweisbar. Ihr Vorkommen ist deshalb wichtig festzustellen, weil als Quelle dieser Oxone nur die Blutleukocyten in Betracht kommen und weil durch diese Beobachtungen ein Licht auf das Schicksal ausgeschiedener Oxydasen und Peroxydasen fällt.

Derartige Fälle sind sehr selten. Die Mitteilung zweier positiver Befunde erscheint mir daher berechtigt.

Der erste Fall betrifft einen Skeletmuskel, von dem ein Stückchen zur histologischen Untersuchung an die Landesstelle eingeschickt war wegen Verdacht auf Trichinose, der zweite Fall einen Herzmuskelinfarkt durch Verschluß einer Kranzschlagader, der von mir vor etwa 10 Jahren seziert worden ist. Im ersten Falle handelte es sich nach dem histologischen Bilde nicht um eine Trichinose, sondern um eine akute nicht eitrige Myositis mit diffuser Leukocyteninfiltration bei meist gut erhaltenem Muskelbau, der nur an Stellen stärkerer Anhäufung von Eiterzellen Faserzerfall zeigte (*Heppsche Pseudotrichinose*).

Da das Muskelstück bereits in Formol fixiert war, konnten nur die Naphthol- und Benzidinreaktionen angesetzt werden mit folgendem Ergebnis. Gefrierschnitte des Muskels, in alkalische α -Naphthollösung gelegt, zeigten makroskopisch keine Verfärbung, unter dem Mikroskop erscheinen die Leukocytentengranula zum Teil violett; zum Teil sind sie ungefärbt. In alkalifreier Naphthollösung (in 0,85%iger Kochsalzlösung) mit H_2O_2 -Zusatz färbt sich, bereits mit bloßem Auge sichtbar, der ganze Schnitt violett, einzelne Stellen fast schwarzviolett. Unter dem Mikroskop sind die Leukocytentengranula, die Muskelfasern zum größten Teil und an einzelnen Stellen die wandständigen Muskelkerne durch ihre Violettfärbung deutlich erkennbar. Durch Nachbehandlung mit Naphtholgentianaviolettlösung und Differenzierung mit verdünntem Alkohol lassen sich leicht Dauerpräparate herstellen, da die Blaufärbung nur da erhalten bleibt wo das oxydierte Naphthol gebunden ist.

In wäßriger Benzidinlösung (Aqua dest.) mit Zusatz von H_2O_2 in Mengen, welche die roten Blutkörperchen unbeeinflußt lassen, färbt sich der Schnitt zunächst grün, nach kurzer Zeit gelbbraun. Da, wo Muskelkerne die Peroxydasereaktion geben, sind sie dunkelbraun gefärbt. Paraffinschnitte, die nach der Methode von *Gram* gefärbt wurden, zeigten außer zahlreichen Streptokokken in den dichteren Leukocytenanhäufungen in einzelnen Muskelfasern feinste blaue Körnchen in Größe und Anordnung der Indophenoloxydasegranula.

Etwas anders war das Oxydasebild bei dem Herzmuskelinfarkt. Hier trat in unmittelbarer Nachbarschaft der Muskelnekrose eine starke Naphtholoxydasereaktion der gut erhaltenen Muskelfasern ein, die sich in einer alkalischen α -Naphthollösung dunkelviolett färbten. Eiterzellen waren nicht zu sehen, doch deutete das Vorhandensein zahlreicher

oxydasehaltiger Körnchen zwischen den Muskelfasern auf den Zerfall von Leukocyten hin.

In beiden Fällen ist die ausgezeichnete Querstreifung der von Oxydase und Peroxydase durchsetzten Muskulatur bemerkenswert. Es macht geradezu den Eindruck, als wenn die Oxydasedurchtränkung günstig auf die Erhaltung der Struktur eingewirkt hat.

Die Befunde sind für die Beantwortung dreier Fragen von Wichtigkeit.

1. Bestehen Beziehungen zwischen Naphtholoxydase, Peroxydase, stabiler und labiler Indophenoloxydase?
2. Welche Rolle spielt die Kernmembran im Oxydasestoffwechsel?
3. Bestehen Beziehungen zwischen Oxydase und Färbung nach *Gram*?

I. Beziehungen der einzelnen Oxydasen untereinander.

Die Naphtholoxydasen lassen sich in zwei Gruppen teilen, in solche, die gleichzeitig bei Einwirkung von Alkali einen Farbstoff abspalten und mit α -Naphthol eine schwarze Farbreaktion geben und in solche, die in der Regel keinen Farbstoff bilden und in alkalischen Naphtholösungen einen violetten, schwärzlichen oder blauvioletten Farbton annehmen. Die Oxydasen der zweiten Gruppe sind sämtlich Peroxydasen, d. h. es treten Farbreaktionen ein bereits bei Verwendung nicht-alkalischer Naphthollösungen, wenn H_2O_2 zugesetzt wird. Die Oxydasereaktion dagegen tritt nur in alkalischen Lösungen ein, wenn es sich nicht um lebende Gewebe (Pflanzen) handelt. Die Oxydasen der ersten Gruppe (Chromogenoxydasen) sind nicht ohne weiteres Peroxydasen, spalten aber unter gewissen Umständen Peroxydasen ab.

Die Naphtholperoxydasen geben, soweit ich feststellen konnte, sämtlich die stabile Indophenolreaktion ohne Zusatz von H_2O_2 . Es gibt außerdem noch Zellen, die nur bei Gegenwart von H_2O_2 sich im Nadigemisch blau färben — Indophenolperoxydasen. Zwischen den labilen und stabilen Oxydasen besteht nach den herrschenden Ansichten kein grundsätzlicher Unterschied; von *v. Gierke, Graeff, Katsunuma* u. a. wird die Indophenoloxydasreaktion in beiden Fällen als Eisenreaktion aufgefaßt, nach *Sehrt* werden beide Reaktionen durch saure Lipide herbeigeführt.

Auch in der Theorie von *Sehrt* darf die Rolle des Eisens nicht unberücksichtigt bleiben, da Eisen die Oxydation des Systems — saures Lipoid-Nadigemisch — und einer angesäuerten Paraphenylendiaminlösung ohne α -Naphtholzusatz beschleunigt. Zwischen Vorkommen von labilen Indophenoloxydasen und Paraphenylendiaminoxydasen besteht, wie aus bakteriologischen und Zelluntersuchungen hervorgeht, ein gewisser Parallelismus. Dagegen kommen Naphtholoxydase und Paraphenylendiaminoxydase meist nicht gleichzeitig nebeneinander vor, die meisten Naphtholoxydasen und -peroxydasen geben aber die Paraphenylendiamin-peroxydasreaktion.

Nach den Untersuchungen von *Katsunuma* sind die labilen Indophenoloxidasen des Muskels für die Funktion des Muskels wichtige Bestandteile, ihre Regeneration durch Assimilation aus dem Blut erscheint wahrscheinlich, wenn man auch *Stämmler* zugeben muß, daß die Indophenoloxidasen durch einen Absterbevorgang entstehen können. Nun enthält aber das Blutserum weder Indophenoloxidasen noch Peroxydasen. Es fragt sich daher, ob im Blutserum Stoffe enthalten sind, die in Naphthollösungen in irgendeinem System Oxydationsbeschleunigung hervorrufen. Das ist in der Tat der Fall in dem System Alkali + Naphthol + Formol, wie ich bereits 1910 feststellen konnte.

Zum Nachweis dieser Oxydationsbeschleunigung braucht man

1. eine zehnfach verdünnte Lösung von 10,0 g Ätzkali in 100 ccm Aqua dest. gelöst (etwa 0,9%);
2. eine 2%ige Formollösung einer 35 gewichts- und 38 volumenprozentigen Formaldehydlösung (Formol), im Versuch von der Firma Gehe (Dresden) bezogen.

Man löst 0,5 g α -Naphthol in 100 ccm Kalilauge und gibt die 2%ige Formollösung in folgenden Mengenverhältnissen zu:

	1. Gläschen	2. Gläschen	3. Gläschen
α -Naphthollösung . . .	0,5	0,75	0,25 ccm
Formollösung	0,5	0,25	0,75 ccm

Die Oxydation in den Gläschen wird durch eine Grün- bis Blaufärbung der Lösung angezeigt, und zwar beginnt sie zuerst im dritten Gläschen, dann folgt das erste, im zweiten Gläschen tritt keine Grünfärbung ein. Die Oxydation kann beschleunigt werden durch Zusatz von 0,2 bis 1,0 ccm Eiweiß, Blutserum, einer 10%igen Fleischextraktlösung, Eiter und Galle. Das wirksame Prinzip dürften Amidoverbindungen sein. In der Tat gibt eine 2%ige Glykokollösung gleichstarke Reaktion und hat mit Serum, Hühnereiweiß und Fleischextrakt das gemeinsam, daß bei stärkerem Zusatz (0,5—1,0 ccm) das erste und dritte Gläschen keinen Farbstoff bilden, während das mittlere sich grün färbt. Das ist bei Zusatz von Galle nicht der Fall. Hier tritt die Grünfärbung in allen Gläschen ein.

Es ist somit der Gehalt des Eiweißes an freien Amidosäuren für derartige Oxydationssysteme wichtig. Noch deutlicher wird der Einfluß der Amidoessigsäure auf dieses System, wenn man zum Schluß Eisen einwirken läßt (Eisenchlorid frisch bereitet 1: 1000). Gibt man die Eisenchloridlösung, die eine nichtalkalische Naphthollösung schnell oxydiert unter Bildung eines rötlich-violetten Farbstoffes, in die alkalische Naphthollösung, so fällt das Eisen als Hydroxyd aus, und es tritt keine Oxydationsbeschleunigung ein; auch der Zusatz von Formol ist in dieser Beziehung ohne Einfluß; gibt man aber zu dem Formol-Naphtholgemisch Glykokollösung und dann Eisen, so treten augenblicklich

blauviolette Färbungen ein, die eine große Ähnlichkeit mit den Naphtholoxydaseraktionen in Zellen besitzen.

Besonders auffällig ähnlich den Zellfärbungen war diese Verfärbung bei folgendem Mischungsverhältnis:

Formol 2%	1,5
α -Naphthollösung	0,5
Glykokollösung (2%)	0,5
Eisen 1 : 1000	0,5

Nimmt man an Stelle des Formol ein Gemisch von 2%iger Formolösung und 2%iger Glykokollösung und setzt die drei Gläschen nebeneinander in den Mengenverhältnissen an, wie sie früher angegeben sind, dann bleibt nach dem Zusatz des Eisens das mittlere Gläschen ungefärbt. Die Färbung des ersten Gläschens ist mehr burgunderrot.

Setzt man die Amidosäure als letzte Verbindung diesem System zu, so tritt keine Farbreaktion ein, weil das Eisen in der alkalischen Naphtholösung verändert wird. Erwärmst man das Gemisch vor Zusatz des Eisens längere Zeit auf 55° oder kocht die Mischung, so tritt nach Eisenzusatz keine oder nur schwache Farbreaktion ein, während das mittlere Gläschen sich auch ohne Eisenzusatz grün färbt, sich also so verhält, als wenn es nur Naphthol und Formol enthielte, die in diesem Mischungsverhältnis bei Zimmertemperatur keine Farbreaktion geben, dagegen durch Kochen grün gefärbt werden.

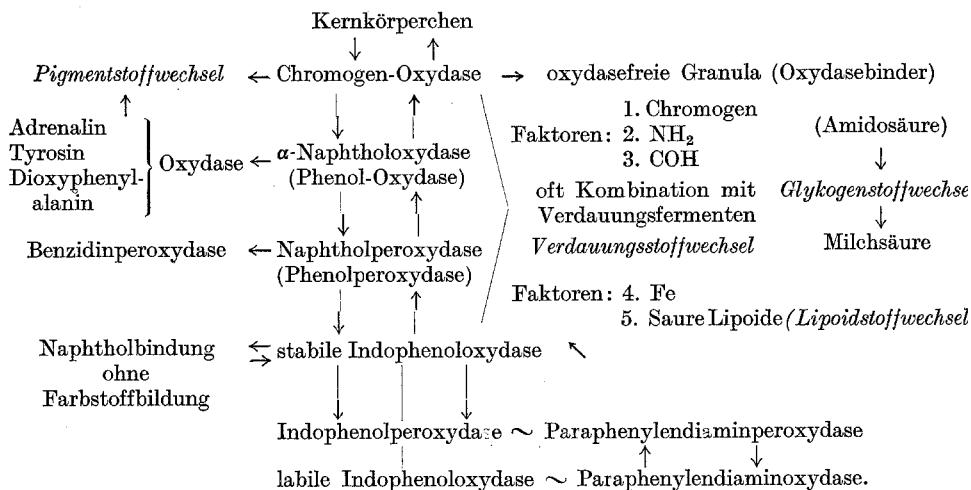
Es hat demnach dieses System eine gewisse Ähnlichkeit mit einem fermentativen System oder einem Ferment und kann auf folgende einfache Formel gebracht werden:



In diesem System wirken OH und COH antagonistisch, COH beschleunigend, OH verhindernd auf die Farbstoffbindung. Das α -Naphthol kann teilweise durch andere Chromogene ersetzt werden, die beschleunigend wirken (z. B. Brenzkatechin). An Stelle des Glykokolls können andere Amidosäuren treten, und endlich ist Eisen durch andere Ferrisalze und durch Mangan oder Kupfer teilweise ersetzbar. Es handelt sich demnach um ein System mit auswechselbaren Faktoren, in dem die Mischungsverhältnisse, die Temperatur und die Reihenfolge eine große Rolle spielen.

Wo die stabile Indophenoloxydase ein Partial der Naphtholoxydase ist, muß letztere, falls die Indophenoloxydaseraktion eine Eisenreaktion ist, Eisen enthalten. Da nach früheren Auseinandersetzungen die Naphtholoxydasen auf Grund ihrer chemischen Eigenschaften als Aldehydamidoverbindungen anzusehen sind (Aldamine), besteht somit eine auffällige Übereinstimmung der theoretischen Formel mit dem Reagensglasversuch. Das Ergebnis dieser Versuche würde bedeuten, daß selbst wenn es sog. Atemfermente in der Zelle gibt, diese stets als Systeme aufzufassen sind mit verschiedenen Faktoren und Partialen.

Die Beziehungen der Oxydasen zu dem Zellstoffwechsel und zu gewissen Zellstrukturen lassen sich nunmehr durch folgende Formel ausdrücken:



In dieser Aufstellung bestehen die Beziehungen zwischen oxydierenden und lytischen Fermenten zunächst nur darin, daß beide Fermente gemeinschaftlich manchmal in einer Zelle gefunden werden. So enthalten manche Spaltpilze (*Vibrio cholerae*) Oxydasen, proteolytische und amylolytische Fermente, bei Infusorien sind die Verdauungsorte (Nahrungsvakuolen) gleichzeitig Oxydationsorte, bei den höheren Tieren enthalten die Naphtholzellen vielfach tryptische oder diastatische Fermente.

Es liegt der Gedanke nahe, daß die Faktoren der oxydativen Systeme auch einen Einfluß auf die lytischen Systeme besitzen. Dieser Gedanke wird durch folgende Erfahrungen gestützt. Ich habe wiederholt darauf hingewiesen, daß Chromogene bei der Lösung oder bei der Bildung von Lipoideiweißstrukturen beteiligt sind. Der eigenartige Einfluß von Glykokollzusatz zu Nährböden auf die Gestaltbildung vieler Bakterien deutet darauf hin, daß das Glykokoll für die autolytischen Vorgänge in der Zelle nicht gleichgültig ist.

Der Einfluß der Amidoessigsäure auf ein tryptisches System ließ sich auch im Reagensglas zeigen, wenn man Würfel von gekochtem Blutserum (*Löfflersche Serumplatte*) durch Trypsinlösung bei verschiedenen Konzentrationen von Alkali zur Auflösung brachte. Hierbei ergab sich in zahlreichen Versuchen, daß Glykokollzusatz das Eiweiß löste, wo die entsprechende Trypsinkalilauge mischung keinen Einfluß auf das Eiweiß hatte und daß durch Glykokollzusatz die Lösung des Eiweißes ganz verhindert werden konnte. Demnach kann, wenn in einer Zelle Amidosäuren vorhanden sind, ein tryptisches System geregelt werden.

Dieser Einfluß dürfte eine Rolle spielen bei kernlösenden Vorgängen innerhalb von Zellen, zum Beispiel bei der Bildung der roten Blutkörperchen. Der Einfluß der Faktoren eines oxydativen Systems auf ein tryptisches geht aus den folgenden orientierenden Versuchen deutlich hervor.

		2%	1%	1/4 %
1.	KOH 0,5	+	—	—
	Kochsalz (0,85%) 1,5			
2.	KOH 0,5	—	—	—
	Glykokoll 0,5			
	Kochsalz 1,0			
3.	Trypsin 1,0	+	—	+
	KOH 0,5			
	Kochsalz 0,5			
4.	Trypsin 1,0	+	+	+
	KOH 0,5			
	Glykokoll 0,5			
5.	Trypsin 1,0	—	+	+
	KOH 0,5			
	Kochsalz 0,25			
	Glykokoll 0,25			
6.	Trypsin 1,0	+	—	+
	alk. Naphthollösung 0,5			
	Kochsalz 0,5			
7.	Trypsin 1,0	+	+	+
	alk. Naphthollösung 0,5			
	Glykokoll 0,5			
8.	Trypsin 1,0	—	—	+
	KOH 0,5			
	Formol 0,2% 0,25			
	NaCl 0,25			
9.	Trypsin 1,0	—	+	+
	KOH 0,5			
	Formol 0,2% 0,25			
	Glykokoll 0,25			
10., 11.	Statt KOH alkalische Naphthollösung sonst wie 8 u. 9.	—	—	—

± Eiweißwürfel gelöst, — Eiweißwürfel nicht gelöst, + Eiweißwürfel halb gelöst.

Verwendet wurden (pulverisiert):

1. 0,5 Trypsin in 100,0 ecm Aqua dest. durch Schütteln gelöst, scharf zentrifugiert, die opaleszierende Lösung mit Thymolzusatz im Eisschrank aufbewahrt. Bei verschiedenen Trypsinpräparaten sind die Mengenverhältnisse verschieden.

Ein Präparat von *Sehe* war dem Trypsin von *Merck* gleichwertig, ein zweites von *Sehe* war nicht zu verwenden.

2. Glykokollösung 2%ig.
3. Formollösung 2%ig, 10fach verdünnt.
4. Alkalische α-Naphthollösung (0,5 Naphthol : 100 Kalilauge (etwa 0,9%).

II. Rolle des Kernes im Oxydasestoffwechsel.

Oxydasereaktionen des Kernes mit α -Naphthol, Benzidin und Nadi-gemisch sind bei Tieren selten, häufiger findet man sie bei Pflanzen, z. B. in den Schließzellen der Unterfläche des Maisblattes. Es hängt diese Erscheinung wohl damit zusammen, daß bei Tieren die Oxydasen an Granula im Protoplasma adsorbiert sind, während sie in Pflanzenzellen meist gelöst an Schleim gebunden sind. Sie können demnach leichter an die Kernmembran niedergeschlagen werden, wenn dort die Bedingungen zu ihrer Erhaltung gegeben sind. Auch in gewissen tierischen Zellen kann man gesetzmäßig die oxydierenden Fermente am Kern niederschlagen. Sehr einfach gelingt der folgende Versuch mit menschlichem Blute: man fixiert einen frischen Blutausstrich mit 80%igem Alkohol, färbt mit einer Naphtholgentianaviolettlösung, die man sich herstellt, indem man im Reagensglas zu einigen Tropfen einer gesättigten alkoholischen Gentianaviolettlösung α -Naphthollösung (in physiologischer Kochsalzlösung) gibt, und der man, um die Ausfällung zu verhindern, einige Tropfen Alkohol zusetzt. Nach Abspülen der Farblösung läßt man auf den blaugefärbten Blutausstrich α -Naphthollösung mit Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd einige Minuten einwirken und differenziert mit verdünntem Alkohol. In der Regel diffundieren bei frischen Blutausstrichen die Oxydasen der Granula in die Kernmembran, und zwar nur in denjenigen Zellen, die Oxydasen enthalten. Die Lymphzellenkerne bleiben ungefärbt, ebenso die Kerne der eosinophilen Leukocyten und der Monocyten, deren Granula die Oxydase nicht abgegeben haben. Es muß demnach die Kernmembran in diesen Zellen eine besondere Adsorptionsfähigkeit für die Oxydasen besitzen.

Daß aber auch in anderen Zellen gelegentlich und zwar offenbar dann, wenn eine stärkere Oxydasenausscheidung von Leukocyten stattgefunden hat, die Kerne Oxydationsreaktionen mit α -Naphthol oder Benzidin geben, geht aus der oben beschriebenen Beobachtung hervor, wo die Kerne der quergestreiften Muskulatur starke Peroxydasereaktionen gaben.

Es seien hier sämtliche positiven Oxydasereaktionen an Kernen zusammengestellt, die ich im Laufe der Jahre beobachtete.

1. Kerne von Alveolarepithelien bei Erstickung infolge von Diphtherie, seltener bei Tuberkulose im Endstadium. Bei Diphtherie konnten auch selten im Protoplasma der Alveolarepithelien Granula nachgewiesen werden, besonders in der unmittelbaren Umgebung des Kernes.

2. Nierenepithelien der Tubuli contorti I. Ordnung, in denen ebenfalls sich Granula nachweisen ließen. (Nierenabscesse.)

3. Kerne von Prostataepithelien bei chronischer Prostatitis, ebenfalls mit Oxydasegranula.

4. Kerne lymphoider Zellen in einem pseudoleukämischen Lymphknoten.

5. Leukocytenkerne bei Eiterungen.

Wenn auch diese Befunde selten sind, so spricht doch ihre Gleichheit dafür, daß die Kernmembran ein Ort ist, an dem in die Zelle gelangte Oxydasen zunächst Halt machen und wahrscheinlich verändert werden, bevor sie die Kernmembran durchlaufen dürfen. Etwas ähnliches wie bei der Adsorption der ausgeschiedenen Oxydasen findet man auch bei der Absonderung der ausgeschiedenen Kernkörperchensekrete, die sich mit der sekundären Naphtholreaktion darstellen lassen. Hier kann man feststellen, daß zunächst im Kern selbst eine granuläre Ausfällung erfolgt, daß mit Zunahme der Sekretion die ganze Kernmembran sich mit der sekundären Naphtholmethode darstellen läßt, und daß dann eine Ausscheidung auch in das Protoplasma vor sich geht. Demnach beschreiben diese Stoffe den umgekehrten Weg wie die primären Oxydasen. Daß primäre und sekundäre Oxydasen aufeinander einwirken, dafür habe ich früher einige Beispiele gebracht.

III. Oxydasen und Färbung nach Gram.

Die granulären Oxydasen, die man mit der α -Naphtholgentianaviolett-methode behandelt hat, geben die Blaufärbung nach Jodbehandlung nicht ab. Da die Oxydasegranula nach der *Gramschen* Methode an sich nicht färbbar sind, sind sie durch die Bindung des Naphtholchromogens (durch Vermittlung der Peroxydase) so verändert, daß nunmehr die Färbung nach *Gram* möglich ist. Eine häufig zu beobachtende Erscheinung ist, daß die Kerne zerfallener Eiterzellen die Färbung nach *Gram* schwer abgeben. Es ist demnach nicht unwahrscheinlich, daß hier die bei der Zersetzung freiwerdenden Oxydasen, die an sich die Neigung haben, sich an der Kernmembran niederzuschlagen, irgendwie Ursache dieser nunmehrigen Färbbarkeit des Kernes geworden sind. So ist auch der Fall denkbar, daß durch Einfluß der leukocytären Oxydasen auf die Indophenoloxydasen des Muskels diese so verändert werden, daß sie nunmehr nach der *Gramschen* Methode darstellbar sind. In welcher Weise dieser Vorgang abläuft, ist dunkel.