

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.  
9. Jg., S. 329—333, Juli 1971

## Nephelometrische Plättchenzählung Ein neues Verfahren zur Bestimmung der Thrombocytenzahl<sup>1)</sup>

VON V. SCHULZ, K. KÖSTERING, CH. WALTHER UND K. KOCHSIEK

*Medizinische Klinik und Poliklinik der Universität Göttingen*

(Eingegangen am 25. März 1971)

Es wird eine Methode zur Bestimmung der Blutplättchenzahl beschrieben, die einfach durchführbar ist und eine große Zahl von Untersuchungen in relativ kurzer Zeit erlaubt. Die Methode basiert auf früheren Untersuchungen über die Gewinnung „plättchenreicher Plasmen“ (1). Für die Erarbeitung der Standardmethode wurden neben den experimentellen Ergebnissen vor allem praktische Gesichtspunkte berücksichtigt. Die Standard-Methode wird wie folgt angegeben: 1,6 ml Venenblut werden mit 0,4 ml einer unter „Methodik“ beschriebenen EDTA-Dextran-NaCl-Lösung in eine 2 ml Speziaispritze<sup>2)</sup> aufgezogen. Nach dem Verschluss des Kanülenansatzes, Durchmischen des Spritzeninhaltes und Entfernen des Spritzenstempels läßt man das Blut in den Spritzenzylindern etwa 1 Std. bei senkrechter Stellung „vorsedimentieren“. Anschließend wird bei 100 g 10 Min. zentrifugiert und 0,1 ml des Plasmaüberstandes in 3 ml physiol. NaCl-Lösung überführt. Durch eine weitere Zentrifugation der Ausgangsblutprobe über 10 Min. bei 1500 g wird in der gleichen Weise ein Plasmaerwert hergestellt.

Die Trübungsmessung (Eppendorf-Photometer mit Nephelometerzusatz, Schichtdicke 20 mm, Filter Hg 578 nm) ergibt als  $\Delta E \cdot 10^6$  die Thrombocytenzahl pro  $\text{mm}^3$  Blut.

### *Nephelometric platelet counting. A new method for the determination of the thrombocyte count*

A new method for platelet counting is described, which is easy to operate and permits a large number of determinations in a relatively short time. The method is based on previous studies on "platelet-rich plasma" (1). Experimental results are reported, together with the practical considerations for the standardisation of the method.

1.6 ml venous blood with 0.4 ml EDTA-dextran-NaCl solution is drawn into a special 2 ml syringe. The needle is closed, the contents of the syringe are mixed, the plunger is removed, and the syringe is left upright for presedimentation. The blood is then centrifuged at 100 g for 10 min and 0.1 ml of the supernatant is added to 3 ml of 0.85% NaCl. A blank for the nephelometric measurement is prepared by further centrifugation of the test suspension at 1500 g. The extinction (Eppendorf photometer with nephelometer attachment, path length 20 mm, filter Hg 578 nm)  $\Delta E \cdot 10^6$  gives the number of platelets per  $\text{mm}^3$  blood.

Nach vorausgegangenen Untersuchungen (1) ist die Anzahl der Plättchen pro Volumeneinheit im „Plättchenüberstand“ von kleinen Blutproben, die unter Standardbedingungen zur Sedimentation gebracht worden sind, der Thrombocytenzahl im Blut proportional. Durch eine Vorbehandlung der Blutprobe mit einem geeigneten „Sedimentationsbeschleuniger“ in bestimmter Konzentration und nachfolgender dosierter Zentrifugation gelingt es, ein „plättchenreiches Plasma“ herzustellen, das nahezu frei von roten und weißen Blutzellen ist (1). Aus den auf dieser Weise gewonnenen „plättchenreichen Plasmen“ läßt sich durch elektronische Teilchenzählung (2) oder durch photometrische Trübungsmessung die Thrombocytenzahl ermitteln. Diese Verfahren können die zeitlich aufwendigen Ausstrich- (3) und Kammerzählungen (4, 5, 6) ersetzen.

### Material und Methodik

#### Material

Es wurde nur frisches Venenblut verwendet. Die Venenpunktion erfolgte mit Kanülen Nr. 1. Jeweils 1,6 ml Blut wurden in eine 2 ml Spezial-Spritze<sup>2)</sup> aufgezogen. Die Spritze enthielten je 0,4 ml einer blutisotonischen Lösung folgender Zusammensetzung (1):

Dinatriumäthylendiamintetraacetat (EDTA, Titriplex III der Firma Merck)	0,75 g
Dextran (Dextran 150, Pharmacia, Uppsala)	1,25 g
NaCl	0,75 g
dest. Wasser	ad 100,00 ml

Für die unter der Tabelle 1 beschriebene Versuchsanordnung wurden außerdem 0,4 ml einer 3,8proz. Natriumcitratlösung mit gleichem Dextranzusatz wie oben angegeben verwendet.

Nach der Blutentnahme wurde der Spritzeninhalt durch mehrfaches Kippen gut durchmischt, der Kanülenansatz durch zentrifugenfeste Plastikdecken<sup>2)</sup> verschlossen, der Stempel entfernt und der Spritzenzylinder mit Inhalt bei senkrechter Stellung in einem Ständer bei Raumtemperatur zur „Vorsedimentation“ gebracht. Die weitere Verarbeitung der Blutproben erfolgte 1—5 Stunden nach der Blutentnahme.

#### Zentrifugation

Die „vorsedimentierten“ Blutproben wurden in den Spritzenzylindern bei Raumtemperatur zentrifugiert. Die Laufzeiten der Zentrifuge betragen immer 10 Min. Die relativen Zentrifugenbeschleunigungen wurden für den inneren Radius der zentrifugierten Blutsäulen berechnet. Sie betragen für die Zentrifugation der „plättchenreichen Plasmen“, im folgenden als „Hauptwerte“ bezeichnet, jeweils 100 g ( $1g = 981 \text{ cm} \cdot \text{sec}^{-2}$ ). Die als „Leerwerte“ in die Messungen eingehenden „plättchenarmen Plasmen“ wurden 10 Min. bei etwa 1500 g zentrifugiert.

#### Trübungsmessung (Nephelometrie)

0,1 ml der nach der Zentrifugation vorliegenden Plasmaüberstände wurden mit Konstriktions-Pipetten in 3 ml physiologische NaCl-Lösung pipettiert. Für die unter der Abbildung 4 beschrie-

<sup>1)</sup> Die Arbeit enthält Teile der Inauguraldissertation von V. SCHULZ.

<sup>2)</sup> Firma Braun, Melsungen.

bene Versuchsanordnung wurden auch andere, dort angegebene Verdünnungsansätze mit physiologischer NaCl-Lösung verwendet. Für die unter der Tabelle 3 beschriebenen Versuche wurden außerdem je 0,1 ml der „plättchenreichen Plasmen“ in je 3 ml dest. Wasser oder 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 und 2proz. NaCl-Lösungen pipettiert.

Von den so hergestellten Plasmaverdünnungen wurden die Extinktionen („Hauptwert“ gegen „Leerwert“) mit einem Eppendorf-Photometer unter Einsatz der Rechteckblende 1770 für Trübungsmessungen ermittelt. Die Schichtdicke betrug bei der Messung 20 mm. Es wurde das Filter Hg 578 nm verwendet. Der Abstand von der Photozelle zur Küvette betrug 40 mm. Die Photometermessungen wurden innerhalb einer Stunde nach Herstellung der oben angegebenen Plasmaverdünnungen durchgeführt. Für die unter der Tabelle 2 beschriebene Versuchsanordnung wurden außerdem Messungen 3, 6 und 10 Stdn. nach der Herstellung der Plasmalösungen vorgenommen.

#### Mikroskopische Thrombocytenzählung

Frischgewonnenes Venenblut wurde in Leukocytenpipetten bis zur Marke 0,5 aufgezogen und eine 3proz. Novocainlösung bis zur Marke 11 nachgezogen (6). Nach Umschütteln und einer Lagerung von 20 Min. wurde eine THOMA-Zählkammer beschickt. „Plättchenreiches Plasma“ wurde ebenfalls in einer Leukocytenpipette bis zur Marke 0,5 aufgezogen, dann wurde physiol. NaCl-Lösung bis zur Marke 11 nachgezogen, die Pipette umgeschüttelt und sofort anschließend die THOMA-Zählkammer beschickt. Die Auszählung der Thrombocyten erfolgte mit dem Phasenkonstrastmikroskop (6).

#### Ergebnisse

In den Abbildungen 1 und 2 wird die Proportionalität zwischen nephelometrischen Extinktionen der Photometeransätze und den mikroskopisch ermittelten Plättchenzahlen dargestellt. Für die Abbildung 1 wurde zur mikroskopischen Zählung „plättchenreiches Plasma“, für die Abbildung 2 frischgewonnenes Venenblut verwendet. Für die Abbildung 3 sind die Kammerzählungen aus „plättchenreichem Plasma“ und aus frischem Venenblut gegenübergestellt. Neben einem Vergleich der Korrelationskoeffizienten  $r$  der Abbildungen 1–3 ist beachtenswert, daß der Regressionskoeffizient  $b$  in der Abbildung 3 nahezu 1 ( $b_3 = 1,01$ ) beträgt, dem die näherungsweise Identität von  $b$  in der Abbildung 1

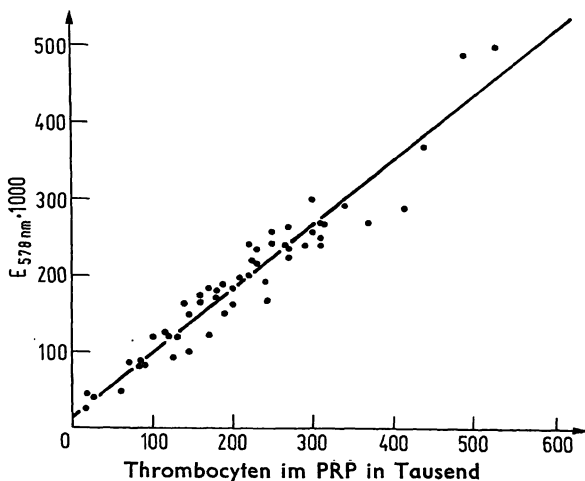


Abb. 1

Proportionalität zwischen nephelometrischer Extinktion und mikroskopischer Zählung mit „plättchenreichem Plasma“ (PRP).  $n = 69$ ;  $r = 0,97$

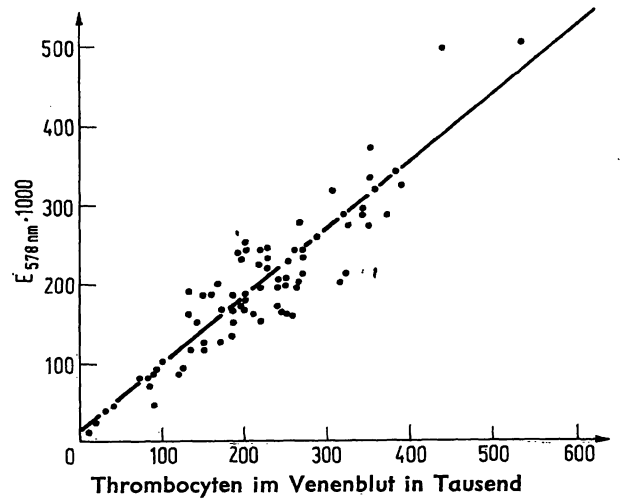


Abb. 2

Proportionalität zwischen nephelometrischer Extinktion und mikroskopischer Zählung mit Vollblut.  $n = 83$ ;  $r = 0,92$

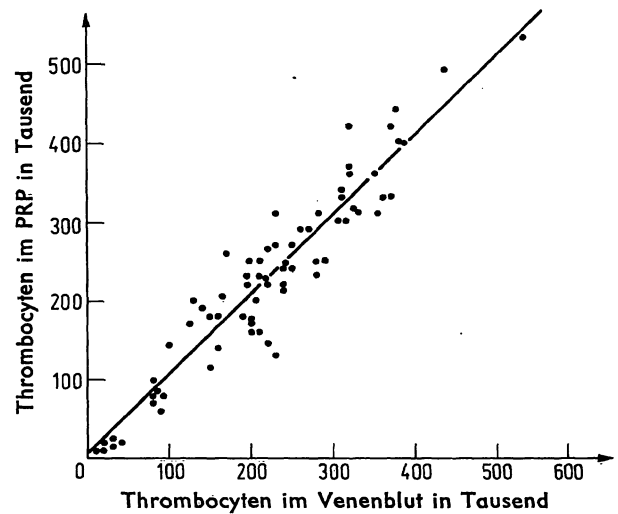


Abb. 3

Proportionalität der mikroskopischen Zählungen mit „plättchenreichem Plasma“ (PRP) und Vollblut.  $n = 67$ ;  $r = 0,93$

( $b_1 = 0,83$ ) und Abbildung 2 ( $b_2 = 0,84$ ) entspricht. Auf diesen Befund werden wir in der Diskussion zurückkommen.

BORN (7) beschrieb, daß Thrombocyten, die in Salzlösungen suspendiert waren, gegenüber solchen im Blutplasma eine höhere nephelometrische Extinktion ergaben. In Anlehnung an diese Beobachtung stellten wir Verdünnungsreihen mit physiol. NaCl-Lösung her. 10 verschiedene „plättchenreiche Plasmen“ mit mittleren Thrombocytenzahlen um 250000 pro  $\text{mm}^3$  wurden im Verhältnis 1:2 bis 1:128 mit physiol. NaCl-Lösung verdünnt. Die Extinktionen dieser Lösungen wurden gegen gleichartig hergestellte Leerwerte gemessen. Um den Einfluß der Plasmaverdünnungen auf die Extinktionen quantitativ erfassen zu können, wurden die gemessenen Extinktionen durch das Verdünnungsverhältnis dividiert. Durch diese Umrechnung wurden „relative Extinktionen“ erhalten, d. h. dieser Quotient bezieht sich immer auf konstante Thrombocytenzahlen. Zur besseren Übersicht wurden die „relativen Ex-

Tab. 1  
Einfluß des Antikoagulans auf die nephelometrische Plättchenzählung

Antikoagulans		3,8proz. Citrat-Lösung			0,75proz. EDTA-Lösung			EDTA in Substanz
Stunden nach der Blutentnahme		1	3	6	1	3	6	1
Thrombocytenzahl in Tausend								
Proband	1	210	215	190	210	210	210	210
	2	260	255	240	260	260	240	265
	3	230	230	210	230	230	200	220
	4	180	180	180	180	165	185	185
	5	280	280	260	290	280	280	280
$\bar{x}$		232	232	216	234	232	219	232

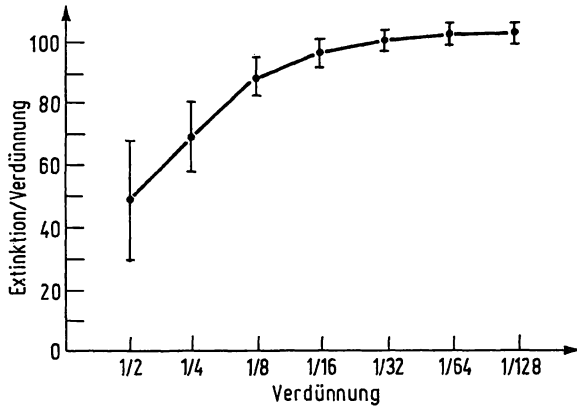


Abb. 4

Einfluß der Plasmaverdünnung auf die Extinktion. „Plättchenreiche Plasmen“ wurden mit physiol. NaCl-Lösung zunehmend verdünnt. Die Verdünnungsgrade wurden mit den „relativen Extinktionen“ (siehe Text) korreliert. Man erkennt, daß ab einer Verdünnung von 1:16 die „relativen Extinktionen“ nur noch geringfügig zunehmen und sich asymptotisch einem Endwert nähern. Beachte die Abnahme der Standardabweichungen

tinktionen“ nicht als Absolutbeträge, sondern als Prozentwerte angegeben. Dabei wurden die mit dem Plasmaverdünnungsverhältnis von 1:32 ermittelten Ergebnisse gleich 100% gesetzt, das entspricht unserer Standardverdünnung. Mittelwerte aus diesen Prozentzahlen gibt die Abbildung 4 zusammen mit den zugehörigen Standardabweichungen wieder. Aus der Darstellung ist ersichtlich, daß die „relativen Extinktionen“ mit zunehmender Plasmaverdünnung ansteigen, jedoch jenseits des Verhältnisses von 1:16 sich asymptotisch einem Endwert nähern. Weiterhin ergibt sich mit zunehmender Plasmaverdünnung eine deutliche Abnahme der Standardabweichung. Die Tabelle 1 zeigt den Einfluß zweier verschiedener Calciumkomplexbildner, die dem Blut zur Gerinnungs-

verhütung und zur Verhinderung der Plättchenaggregation zugesetzt werden können. Zugleich wurde untersucht, ob ein Überschuß von EDTA (eine Messerspitze Pulver auf 2 ml Blut) das Meßergebnis beeinflussen kann. Die Meßergebnisse waren bei der Anwendung beider Antikoagulantien gleich, auch der Überschuß an EDTA bewirkte keine Änderung.

Die Tabelle 2 gibt den Einfluß verschiedener Zeitintervalle zwischen der Plasmaverdünnung und der Extinktionsmessung wieder. Es wurden 0,1 ml „plättchenreiches Plasma“ in 3 ml physiol. NaCl-Lösung jeweils sofort, sowie nach 3, 6 und 10 Stdn. gemessen. Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, daß die Messung innerhalb von 3 Stdn. nach der Plasmaverdünnung durchgeführt werden muß.

In der Tabelle 3 wird mit dem üblichen Verdünnungsverhältnis des Plasma (1:32) der Einfluß unterschiedlicher osmotischer Verhältnisse der Lösungsansätze auf Extinktionen untersucht. Es wurde gegen äquivalent hergestellte Leerwerte gemessen. Der Meßwert in physiol. NaCl-Lösung wurde jeweils gleich 100% gesetzt. Die anderen Messungen wurden auf diese Werte

Tab. 2  
Haltbarkeit der Plasmaverdünnung für die Nephelometrie

Stdn. nach Ansatz der Photometermischung		0	3	6	10
Thrombocytenzahl in Tausend					
Proband	1	370	390	370	360
	2	305	300	295	270
	3	290	280	250	260
	4	220	200	190	170
	5	305	280	270	250
$\bar{x}$		300	290	275	260
%		100	97	92	87

Tab. 3  
Einfluß hypotoner und hypertoner Lösungen auf die nephelometrische Messung  
Die Messungen mit physiol. NaCl-Lösung wurden gleich 100% gesetzt

NaCl-Lösung [%]	0,0		0,4		0,8		0,9		1,2		1,6		2,0		
	Thrombocyten in 1000	%	Thrombocyten in 1000	%	Thrombocyten in 1000	%	Thrombocyten in 1000	%	Thrombocyten in 1000	%	Thrombocyten in 1000	%	Thrombocyten in 1000	%	
Proband	1	180	49	285	77	365	99	370	100	405	110	435	118	460	124
	2	140	68	155	71	205	100	205	100	220	107	235	114	235	114
	3	155	69	185	82	230	102	225	100	255	113	265	118	265	118
	4	140	72	135	69	180	93	195	100	190	98	205	105	210	108
	5	145	80	140	78	175	97	180	100	190	106	200	111	215	120
	6	130	58	165	71	210	94	225	100	245	109	250	112	260	116
	7	175	76	175	76	235	102	230	100	250	108	260	113	265	115
	8	145	74	165	84	185	95	195	100	205	105	215	110	225	115
	9	110	61	140	78	180	100	180	100	195	108	205	114	215	119
	10	205	78	230	88	265	102	260	100	285	109	310	119	310	119
$\bar{x} \pm s$ [%]		69 ± 9		77 ± 6		98 ± 3		100		107 ± 4		113 ± 4		116 ± 4	

Tab. 4  
Fehlerbreite der nephelometrischen Plättchenzählung

Plättchen-portion	I	II	III	IV	V	$\bar{x}$	Maximale Abweichung der Meßwerte vom Mittelwert in %	
	Thrombocytenzahl in Tausend							
Proband 1	365	360	370	365	365	365	±1%	
2	210	215	220	210	215	215	±2%	
3	245	235	245	245	235	240	±2%	
4	175	185	180	180	180	180	±2%	
5	170	165	170	170	170	170	±2%	
6	215	220	225	220	225	220	±2%	
7	240	235	235	240	235	235	±2%	
8	195	195	195	195	195	195	±0%	
9	190	180	185	185	185	185	±2%	
10	270	270	280	280	275	275	±2%	

bezogen. Zu den Mittelwerten aus den 10 Meßreihen wurden die Standardabweichungen angegeben. Vom hypotonen zum hypertonen Bereich konnte ein Anstieg der nephelometrischen Extinktionen beobachtet werden. Der Anstieg strebte einem Endwert zu.

Die Tabelle 4 gibt Aufschluß über die Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse des hier beschriebenen Verfahrens der nephelometrischen Plättchenzählung. Von 10 Versuchspersonen wurden je 5 Blutportionen (I–V) wie oben beschrieben vorbereitet und daraus die Plättchenzahl nephelometrisch ermittelt. Die maximalen Abweichungen der fünf Meßwerte vom Mittelwert betragen  $\pm 2\%$ .

#### Diskussion

Licht wird durch suspendierte Teilchen mit einer Größe von mehr als  $4,5 \lambda$  ( $\lambda$  = Wellenlänge des Lichtes) teils absorbiert, teils durch Reflexion gestreut. Für Trübungsmessungen in solchen Medien gilt die Formel:

$$\tau = N \cdot d \cdot \pi \cdot \left( \frac{n_2 - n_1}{n_1 + n_2} \right)^2$$

$\tau$  = Trübungs-koeffizient

$N$  = Zahl der Teilchen

$d$  = Durchmesser der Teilchen

$n_1$  = Brechungs-zahl des Suspensionsmediums

$n_2$  = Brechungs-zahl der suspendierten Teilchen.

Da die Extinktion ( $E$ ) in diesem Fall  $E = d \cdot \tau$  ist ( $d$  = Schichtdicke), wird formelgemäß die Extinktion ein Maß der Teilchenzahl, solange  $d$ ,  $n_1$  und  $n_2$  konstant bleiben. Diese formelgemäße Abhängigkeit hat allerdings nur dann Gültigkeit, wenn von der Photozelle des Photometers kein Streulicht mit erfaßt wird. Das Streulicht kann durch Zwischenschalten einer Spaltblende vor die Photozelle weitgehend eliminiert werden. Außerdem muß der Abstand zwischen Küvette und Photozelle ausreichend groß sein.

Aus der Abbildung 4 ist ersichtlich, daß bei der Abnahme des Plasmaanteils und entsprechender Zunahme des Anteils der physiol. NaCl-Lösung im Suspensionsmedium die Extinktion größer wird. Dieser Effekt wurde früher schon von BORN und GROSS (7) mitgeteilt. Er wird wahrscheinlich durch die mit der Plasmaverdünnung einhergehende Vergrößerung der Differenz der Brechungsindizes  $n_1$  und  $n_2$  (s. o.) verursacht. Dafür

spricht auch der in der Tabelle 3 aufgezeigte Einfluß hypo- und hypertoner Lösungen auf die nephelometrischen Extinktionen. In hypotonen Lösungen schwellen die Thrombocyten, d. h. der Durchmesser ( $d$ ) wird größer. Da die Extinktion trotzdem abnimmt, kann entsprechend der Formel dieser Effekt nur durch eine Änderung der Brechungs-zahl der Thrombocyten ( $n_2$ ) bedingt sein. Für den Einfluß hypertoner Lösungen gilt das Umgekehrte.

Es war zu erwarten, daß Blutplasmen wegen der individuellen Zusammensetzung für die Nephelometrie keine einheitlichen Medien darstellen, da die Brechungs-zahl  $n_1$  von Mensch zu Mensch Schwankungen aufweist, was auch aus den großen Standardabweichungen bei hohem Plasmaanteil im Suspensionsmedium ersichtlich ist (Abb. 4). Genaue nephelometrische Messungen sind daher erst möglich, wenn der Plasmaanteil weniger als  $1/16$  ausmacht.

Die Verwendung einer fixierenden und zur Zellschrumpfung führenden Lösung, z. B. von GOWERS-Lösung, wie sie für die nephelometrische Erythrocytenzählung (8) benutzt wird, ist wegen der ohnehin einheitlicheren Größe der Thrombocyten nicht notwendig. Außerdem führt eine solche Lösung zu einer Eiweißflockung. Wegen des relativ großen Plasmaanteils bei der nephelometrischen Thrombocytenzählung ( $1/32$  gegenüber  $1/2000$  bei der Erythrocytenzählung) würde hierdurch eine „zusätzliche“ starke Trübung ausgelöst, die die Messung unmöglich macht.

Ein Vergleich des Korrelationskoeffizienten der Abbildung 1 ( $r = 0,97$ ) mit dem der Abbildung 2 ( $r = 0,92$ ) zeigt, daß die Genauigkeit der mikroskopischen Zählung durch die im Falle der Abbildung 2 vorausgegangene Hämolyse der Erythrocyten geringfügig abnimmt. Ein Vergleich der Korrelationen der Abbildungen 1–3 läßt dagegen den Schluß zu, daß die nephelometrische Zählung gegenüber den beiden Kammerzählverfahren eine höhere Genauigkeit besitzt. Der Regressionskoeffizient der Abbildung 3 beträgt  $b = 1,01$ , d. h. die Mittelwerte der Meßpaare sind praktisch identisch. Jedoch stammen die zur Abszisse gehörigen Werte aus Vollblut, die der Ordinate aber aus „plättchenreichem Plasma“. Dieses war jedoch aus Blut gewonnen worden, dem im Verhältnis von 1:5 ein Verdünnungsmittel zugesetzt war. Zieht man weiterhin

in Betracht, daß eine Plasma-Thrombocyten-Suspension durch eine Zentrifugation bei 100 g über 10 Min. etwa 20% ihres Plättchengehaltes verliert (1), so wäre ein Regressionskoeffizient  $b = 0,6$  für die Abbildung 3 zu erwarten gewesen. Wie wir bereits früher ausführten (1) wird jedoch durch die Sedimentation der Blutzellen ein Plasmastrom bewirkt, der der Sedimentation der Plättchen entgegengerichtet ist. Aber selbst, wenn man von der extremen und sicher unzutreffenden Voraussetzung ausgeht, daß sämtliche Thrombocyten aus dem Sedimentraum in den Plasmaüberstand verdrängt werden, dürfte der Regressionskoeffizient  $b$  der Abbildung 3 maximal bei 0,9 und nicht bei 1,01 liegen. Das läßt den Schluß zu, daß während der Hämolyse der Erythro-

cyten durch die Novocainlösung ein beträchtlicher Teil der Thrombocyten ebenfalls zerstört werden muß. Nur so ist die Übereinstimmung der Mittelwerte der Abbildung 3 zu erklären. Zugleich wird damit unterstrichen, daß die bekannten „Normalwerte“ für Thrombocyten immer nur relative, d. h. methodenabhängige Normalwerte, aber nicht absolute Normalwerte sein können.

Die nach unserer Methode unter den oben angegebenen Standardbedingungen gemessenen Extinktionen stimmen, wenn man sie mit dem Faktor  $10^6$  multipliziert, gut mit den Normalwerten der bisher am weitesten verbreiteten Methode nach FONIO (3) überein.

#### Literatur

1. SCHULZ, V. und K. KOCHSIEK, diese Z. 9, 324 (1971). — 2. SIPE, C. R. und E. P. CRONKITE, Ann. N. Y. Acad. Sc. 99, 262 (1962). — 3. FONIO, A. und J. SCHWENDERER, in H. Huber, Die Thrombocyten des menschlichen Blutes, Bern (1942). — 4. BRECHER, G., M. SCHNEIDERMAN und E. P. CRONKITE, Amer. J. Clin.

Path. 23, 15 (1953). — 5. DERLATH, S., Ärztl. Forsch. 11, 552 (1956). — 6. FEISSLY, R. und H. LÜDIN, Rev. hemat., Paris 4, 481 (1949). — 7. BORN, G. V. R. und M. J. CROSS, J. Physiol. (London) 168, 178 (1963). — 8. KLEINE, N., Das Ärztl. Lab. 7, 133 (1961).

Prof. Dr. K. Kochsiek  
3400 Göttingen  
Humboldtallee 1