

H. Abbildungen

1. Anzuchtung und Differenzierung der Zellen *in vitro*

Zellen einen Tag nach der Isolierung	Abb. 1
Anzuchtung der Zellen I	Abb. 2
Anzuchtung der Zellen II	Abb. 3
Differenzierung I	Abb. 4
Differenzierung II	Abb. 5
Koloniebildung I	Abb. 6
Koloniebildung II	Abb. 7

2. Lichtmikroskopische Darstellung von angezüchteten Kolonien

Koloniebildung III	Abb. 8
Gewebespezifisch differenzierte Kolonie	Abb. 9

3. Ultrastruktur der Kolonien

Basale Zellschicht einer gewebespezifisch differenzierten Kolonie	Abb. 10
Intermediäre Zellschichten: Zellkerne	Abb. 11
Intermediäre Zellschichten: räumliche Anordnung der Keratinfilamente und Desmosomenbildung	Abb. 12
Intermediäre Zellschichten: Zellkontakte	Abb. 13
Intermediäre Zellschichten: Membrane coated granules (MCGs) und cornified envelope	Abb. 14
Intermediäre Zellschichten: Interzellularkitt	Abb. 15
Superfizielle Zellschichten	Abb. 16

4. Charakterisierung der angezüchteten Zellen

Immunhistochemische Nachweismethoden von Keratinfilamenten	Abb. 17
--	---------

Abbildung 1

Zellen einen Tag nach der Isolierung

Abb. 1a: Primärkultur einen Tag nach der Isolierung: im Nährmedium sind frei schwimmende, kleine vollständig abgekugelte Zellen (**Doppelpfeile**) sichtbar. Hierbei handelt es sich um tote Zellen, die sich 24 Stunden nach der Isolierung auch nicht mehr an die Oberfläche des Kultivierungsgefäßes anheften werden. Des Weiteren sind adhärente Zellen erkennbar. Ein Teil dieser Zellen hat sich vollständig gestreckt (**Pfeile**), während andere erst eine unterschiedliche Anzahl von Ausläufern ausgebildet haben (**Blockpfeil**).
Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 1b: Ein vollständig gestreckter Keratinozyt (**Pfeil**) neben einem unvollständig gestreckten Keratinozyten (**Blockpfeil**). Der unvollständig gestreckte Keratinozyt ist an den Zellausläufern erkennbar, wobei direkt an der Pfeilspitze bereits zwei dieser Ausläufer verbunden sind.
Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 1c: Zwei Fibroblasten mit einigen zum Teil recht langen dünnen Zellfortsätzen
Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

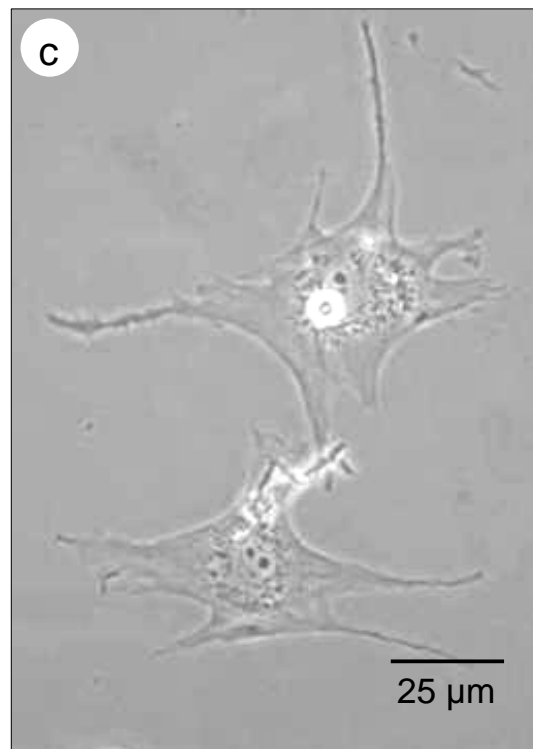
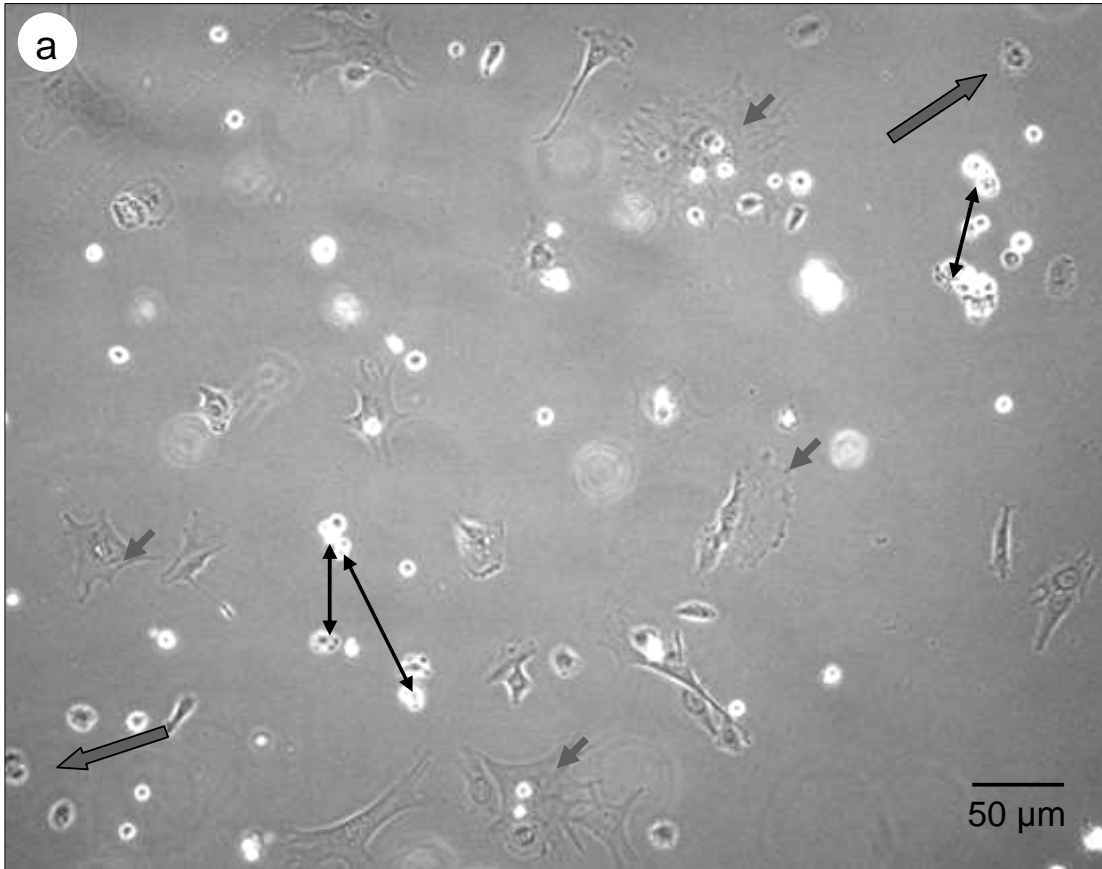


Abbildung 2

Anzüchtung der Zellen I

Abb. 2a: Keratinozyten vier Tage nach der Isolierung: die meisten Zellen haben sich zu unterschiedlich großen Zellnestern zusammengelagert. Die Keratinozyten sind bestrebt engen Kontakt zueinander aufzunehmen, daher kommt es mit dem Einsetzen der Proliferation zur Bildung von Zellnestern. An den Nesterrändern liegende Zellen bilden längere, gut sichtbare Zellfortsätze (**Pfeil**) aus, um mit weiteren Zellen bzw. Zellnestern in Kontakt treten zu können. Sehr wenige Zellen haben sich noch nicht komplett gestreckt (**Blockpfeil**).

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 2b: Die Bildung eines Keratinozytennestes: die Zellen liegen hier noch lockerer zusammen als in Abb. 2a, in den folgenden Stunden wird es aber zur Ausbildung eines dicht gepackten Nestes kommen.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 2c: In dieser Abbildung ist eine Mitose sichtbar (**Pfeil**), die Kernteilung ist bereits erfolgt jedoch noch nicht die Teilung des Zytoplasmas. Des Weiteren ist die häufig beobachtete Ausbildung von Granula, die so gut wie immer um den Zellkern lagen, sichtbar.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 2d: Fibrozytenkultur: hier ist der äußere Rand eines konfluenten Bereiches einer Fibrozytenkultur sichtbar. Interessanterweise haben die Zellen eine klare Abgrenzung zu der noch unbesiedelten Fläche des Kultivierungsgefäßes ausgebildet (**Pfeilköpfe**). In dem konfluenten Zellrasen ist ein Fibroblast erkennbar (**Pfeil**).

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 2e: Eine dreidimensionale Darstellung der Oberfläche einer konfluenten Fibrozytenkultur. Hier wird die fischzugartige Anordnung der Fibrozyten demonstriert.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme



Abbildung 3

Anzüchtung der Zellen II

Abb. 3a: Ausbildung eines konfluenten einschichtigen Zellrasens (Monolayer), hier ist das für Epithelzellen typische kopfsteinpflasterartige Aussehen gut zu erkennen.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 3b: Konfluenter Zellrasen in einer stärkeren Vergrößerung

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 3c: Anheftung eines bei der Subkultivierung intakt gebliebenen Stückchens eines Zellrasens (**Stern**): Man erkennt den „Fuß“ (**Doppelpfeil**), mit dem sich das Stück des Zellrasens an den Untergrund anheftet. Aus dieser Verankerung wandern Zellen auf das Kultivierungsgefäß. Sie haben bereits einen subkonfluenten Zellrasen ausgebildet.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 3d: Vollständig angeheftetes und angewachsenes Stückchen eines nach der Subkultivierung intakt gebliebenen Stückes eines Zellrasens (**Stern**), um das sich ein kompletter Monolayer ausgebildet hat. In direkter Nähe des Zellrasenstückchens wurden mehrere Zellschichten ausgebildet (**Pfeilköpfe**).

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 3d: Darstellung der Auswanderung von Zellen aus einem Zellrasenstück (**Stern**) in einer stärkeren Vergrößerung.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

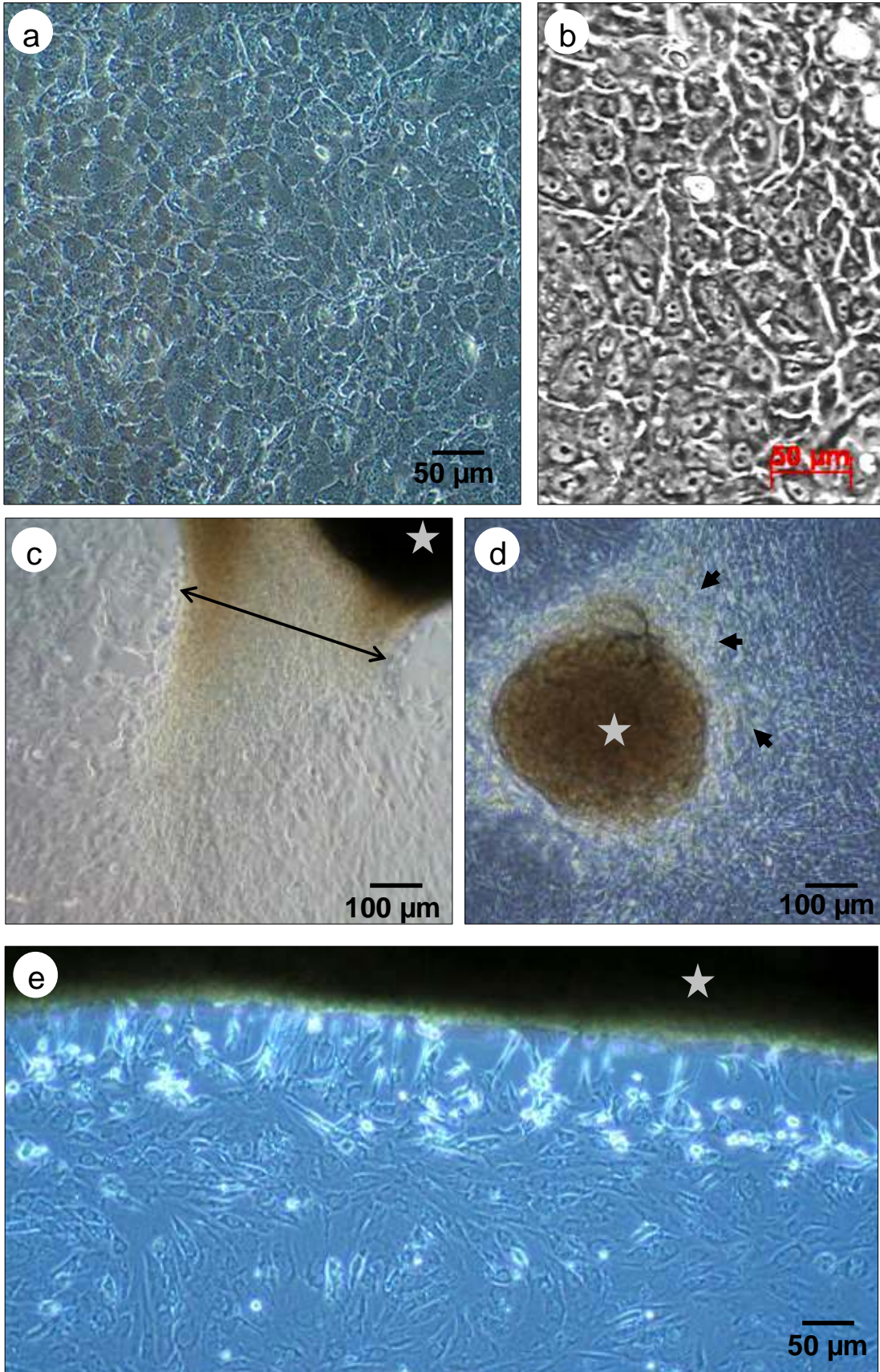


Abbildung 4

Differenzierung I

Abb. 4a: Beginn der Ausbildung einer zweiten Zelllage: Zwei oder drei Zellen (**Pfeil**), die auf dem konfluenten Zellrasen liegen.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 4b: Unterschiedlich stark differenzierte Bereiche innerhalb einer Zellkultur I: es sind sowohl einschichtige Bereiche (**Dreieck**), als auch mehrschichtige Bereiche (**Kreis**) sichtbar. Die **Pfeile** weisen auf tote, im Medium schwimmende Zellen.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 4c: Unterschiedlich stark differenzierte Bereiche innerhalb einer Zellkultur II: in dieser Abbildung ist in der Bildmitte ein noch einschichtiger Bereich erkennbar (**Dreieck**). Daneben sind mehrschichtige Bereiche sichtbar. Zum einen erkennt man mehrschichtige Bereiche, in denen noch vereinzelt Zellgrenzen auszumachen sind (**Kreis**). Zum anderen ist ein Bereich sichtbar, in dem so viele Zellschichten ausgebildet wurden, dass nur noch ein gelblicher „Zellklumpen“ zu sehen ist (**Stern**).

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 4d: Ein desquamierter und gewebespezifisch differenzierter Zellverband, der frei im Medium schwimmt. Einige Zellen weisen noch einen Zellkernrest (**Pfeile**) auf, andere sind kernlos.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 4e: Differenziertes und mehrschichtiges Zellnest, in dessen Umgebung vereinzelt undifferenzierte Zellen liegen.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

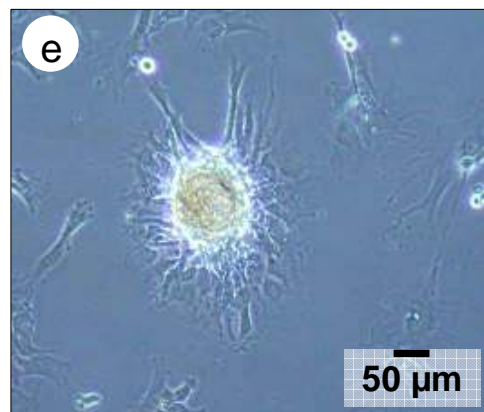
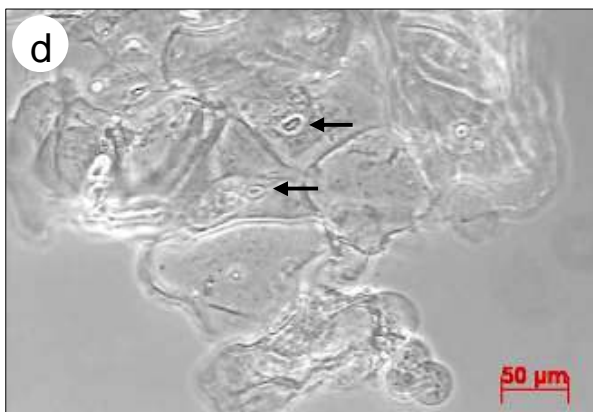
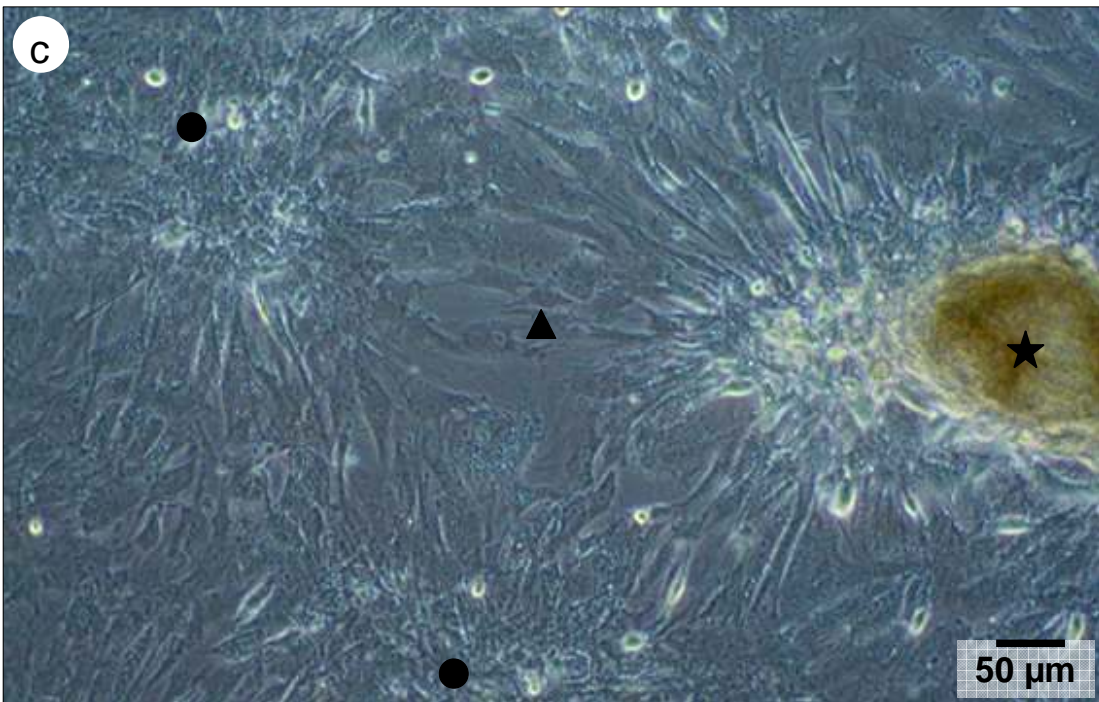
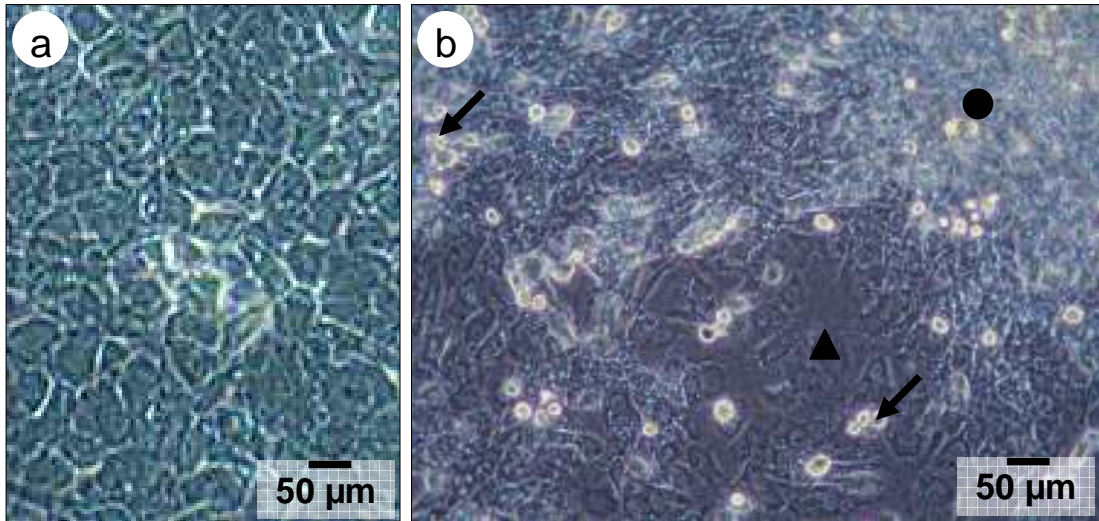


Abbildung 5

Differenzierung II

Abb. 5a: Sehr gut differenzierte Keratinozytenkultur: einzelne Zellen sind nicht mehr sichtbar, da eine große Anzahl von Zellschichten ausgebildet wurde. An der Oberfläche löst sich eine scheinbar kernlose Zelle (**Blockpfeil**), diese sowie das gesamte morphologische Erscheinungsbild dieser Kultur weisen auf eine gewebetypische Differenzierung hin. Eine genauere Aussage über den Differenzierungsgrad und die Anzahl der Zellschichten lässt sich erst nach der später folgenden licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung machen.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 5b: Darstellung der Oberfläche einer sehr gut differenzierten Keratinozytenkultur: auch hier sind keine Zellgrenzen mehr auszumachen. Lediglich sich von der Oberfläche ablösende Zellen (**Blockpfeile**) sind gut gegenüber den anderen Zellen abzugrenzen.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

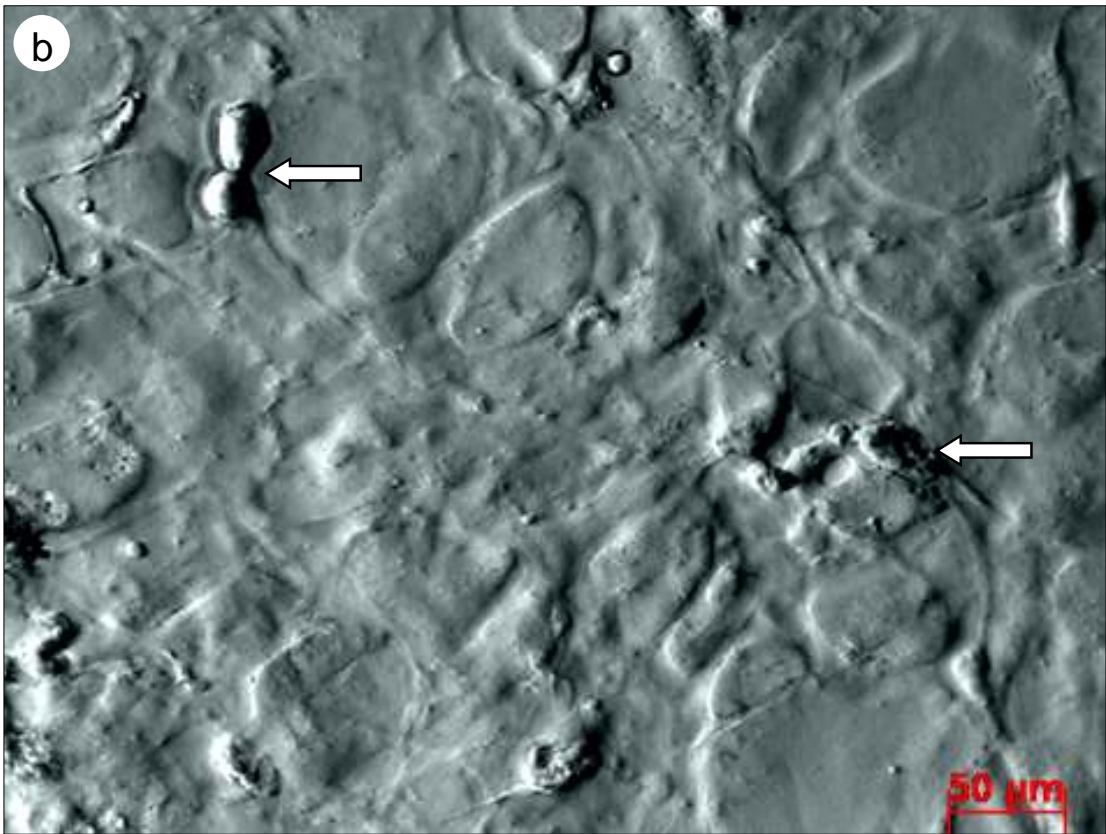


Abbildung 6

Koloniebildung I

Abb. 6a: Das erste Stadium der Bildung einer Keratinozytenkolonie: innerhalb eines Monolayers oder besser auf einem konfluenten Zellrasen fällt eine Ansammlung von großen runden Zellen auf. Diese Zellen sind das erste eindeutige Merkmal für die Entstehung einer Keratinozytenkolonie. Dieses Stadium ist kurz nach dem Erreichen der Konfluenz sichtbar. Die Schnelligkeit des weiteren Fortschreitens ist abhängig von Bedingungen, wie Medium und Fibrozytenanteil.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 6b: Der Rand einer Keratinozytenkolonie im Anfangsstadium: an dem unteren Bildrand erkennt man eine bereits mehrschichtige Region im Zentrum der Kolonie (**Stern**). Darum liegen noch gut erkennbar die großen jetzt in Gegensatz zu der Abb. 6a nur noch ovalen Zellen. Auffällig ist, dass viele dieser Zellen zwei Zellkerne besitzen.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 6c: Fortschreitende Koloniebildung: die großen runden bzw. später ovalen Zellen sind nicht mehr sichtbar. Innerhalb der Kolonie (**Stern**) sind einzelne Zellen nicht mehr erkennbar. Die Kolonieoberfläche wirkt gegen den umgebenden Zellrasen glatt und leicht glänzend.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 6d: Beginn eines späteren Stadiums der Koloniebildung: die Oberfläche dieser Kolonie (**Stern**) ist nicht mehr gleichmäßig glatt und ihre Beschaffenheit gibt einen Hinweis auf eine beginnende Verhornung. Eine genaue Aussage über den Differenzierungsgrad und somit auch über eine beginnende Verhornung kann aber erst nach einer licht- oder elektronenmikroskopischen Untersuchung von Schnittpräparaten gemacht werden.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

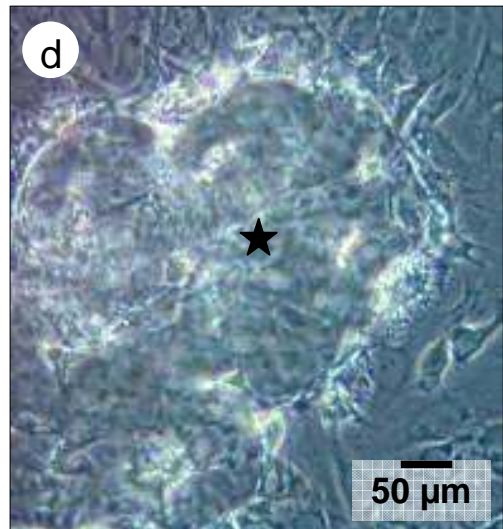
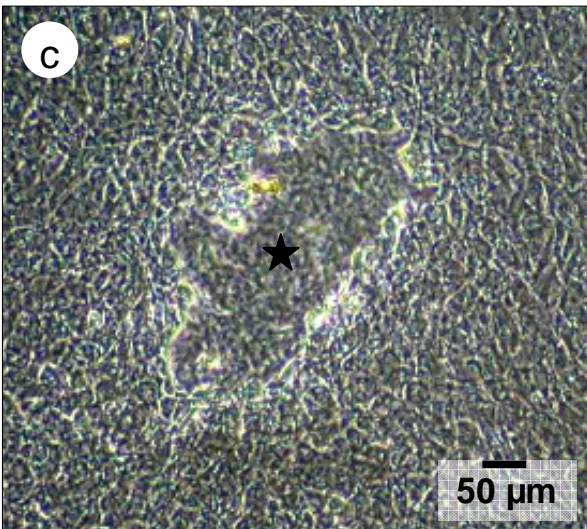


Abbildung 7

Koloniebildung II

Abb. 7a: Keratinozytenkolonie (**Stern**) nach 6 Wochen Anzuchtung: es haben sich mehrere Zellschichten ausgebildet. Innerhalb der Kolonie variiert die Anzahl der Zellschichten, in den dunkleren Bereichen ist deren Anzahl am höchsten. Um die Wachstumsbedingungen für die Kolonie zu verbessern wurden jeden zweiten Tag die umliegenden Zellen mit einem Zellschaber entfernt. Wie man in der rechten oberen Ecke der Abbildung sieht (**Kreis**), wanderten vom Kolonierand ausgehend sofort wieder Zellen aus und begannen damit einen Monolayer zu bilden.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 7b: Randbereich der in Abb. 7a dargestellten Keratinozytenkolonie (**Stern**): man erkennt die am Kolonierand auswandernden Zellen (**Pfeilköpfe**). Unterhalb der eigentlichen Kolonien hat sich ein kleines, mit dem Zellschaber herausgelöstes Koloniebruchstück (**Pfeil**) festgesetzt. Des Weiteren sind zwei tote Zellen (**Doppelpfeil**), die abgekugelt frei im Medium schwimmen, sichtbar.

Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 7c: Die gleiche Keratinozytenkolonie 8 Wochen nach dem Aussäen direkt vor der Fixierung für weitere Untersuchungen. Nach der Entfernung des Nährmediums ist bereits makroskopisch die zerklüftete Oberfläche der Kolonie gut erkennbar. Die Oberflächenbeschaffenheit ist auf eine stark variierende Anzahl von Zellschichten innerhalb der Kolonie zurückzuführen.

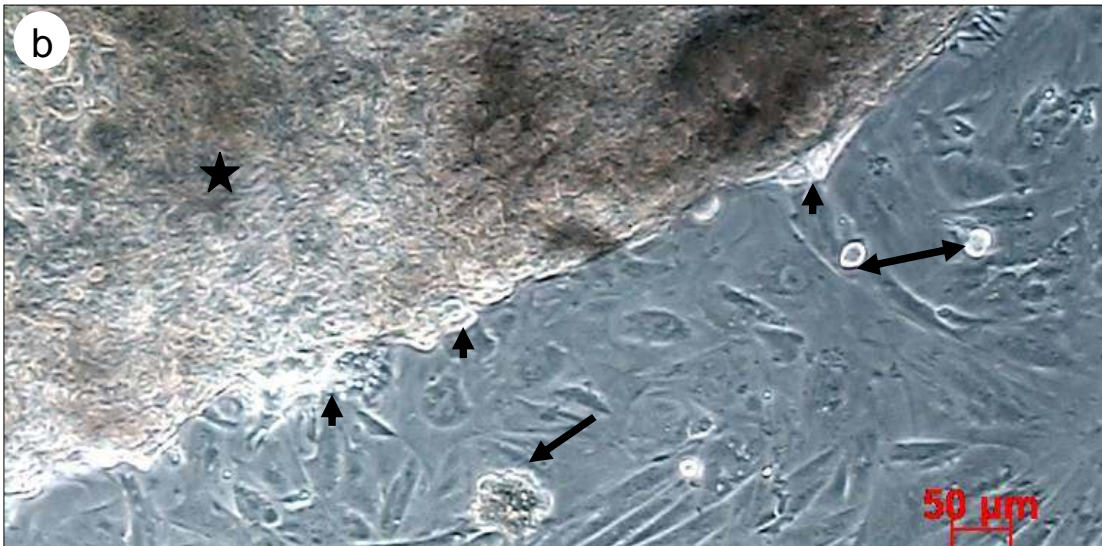


Abbildung 8

Koloniebildung III

Abb. 8a: Kolonieähnliche Zellansammlungen mit Fibrozyten: bei der oberflächlichen Betrachtung im Invert-Mikroskop ähneln diese Gebilde echten Kolonien, aber bei der lichtmikroskopischen Untersuchung fällt die große Anzahl von Fibrozyten (**F**) auf.

LM Präparat, Paraffin, HE

Abb. 8b: Auf einem Millicell[®] Zellkulturplatten-Einsatz (**M**) angezüchtete, unvollständig differenzierte Kolonie: es wurden mehrere Zelllagen ausgebildet. In den oberen Lagen sind die Zellen leicht abgeflacht, aber stark abgeflachte superfizielle Zelllagen fehlen.

LM Präparat, Technovit 7100, Methylenblau-Azur-II

Abb. 8c: Eine weitere unvollständig differenzierte Kolonie, die für die Einbettung vorsichtig mit einem Zellschaber vom Boden des Kultivierungsgefäßes abgelöst wurde. Im Gegensatz zur Abb. 8b sind hier die superfiziellen Zellen stark abgeplattet und besitzen nur sehr schmale, längliche Zellkerne.

LM Präparat, Paraffin, HE

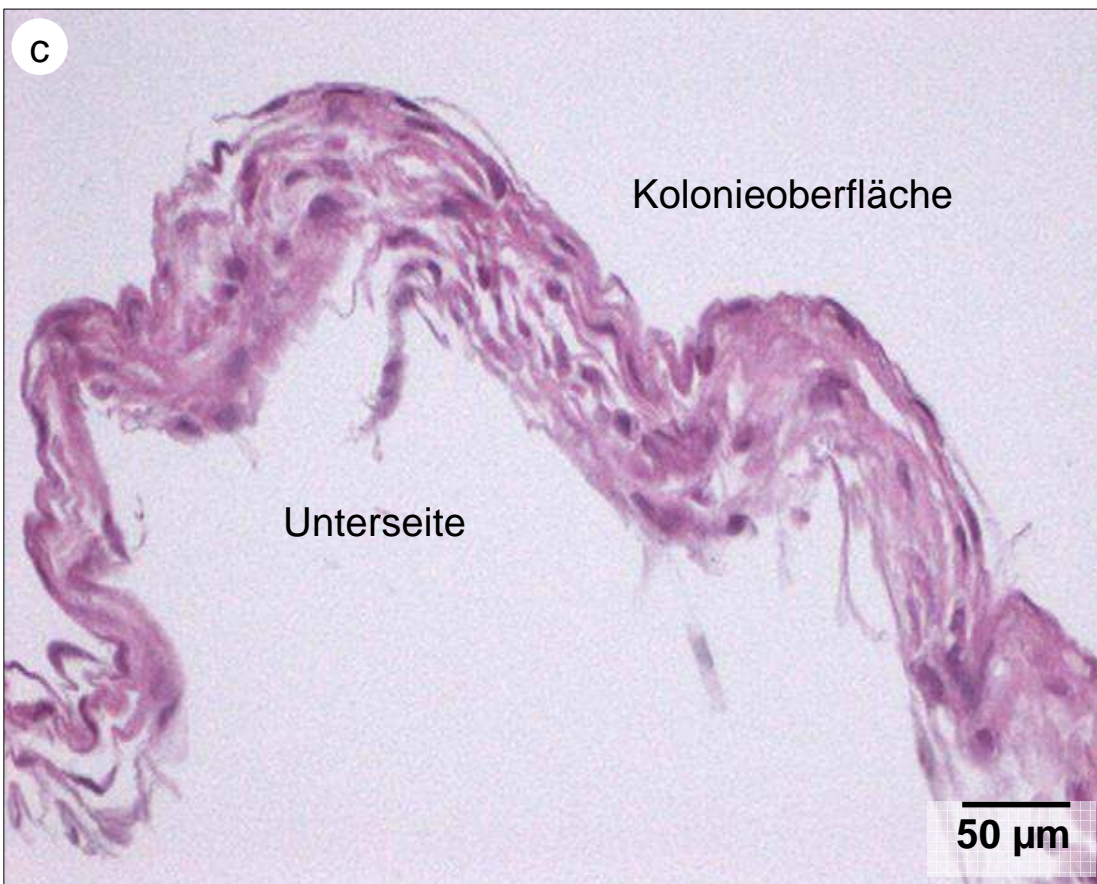
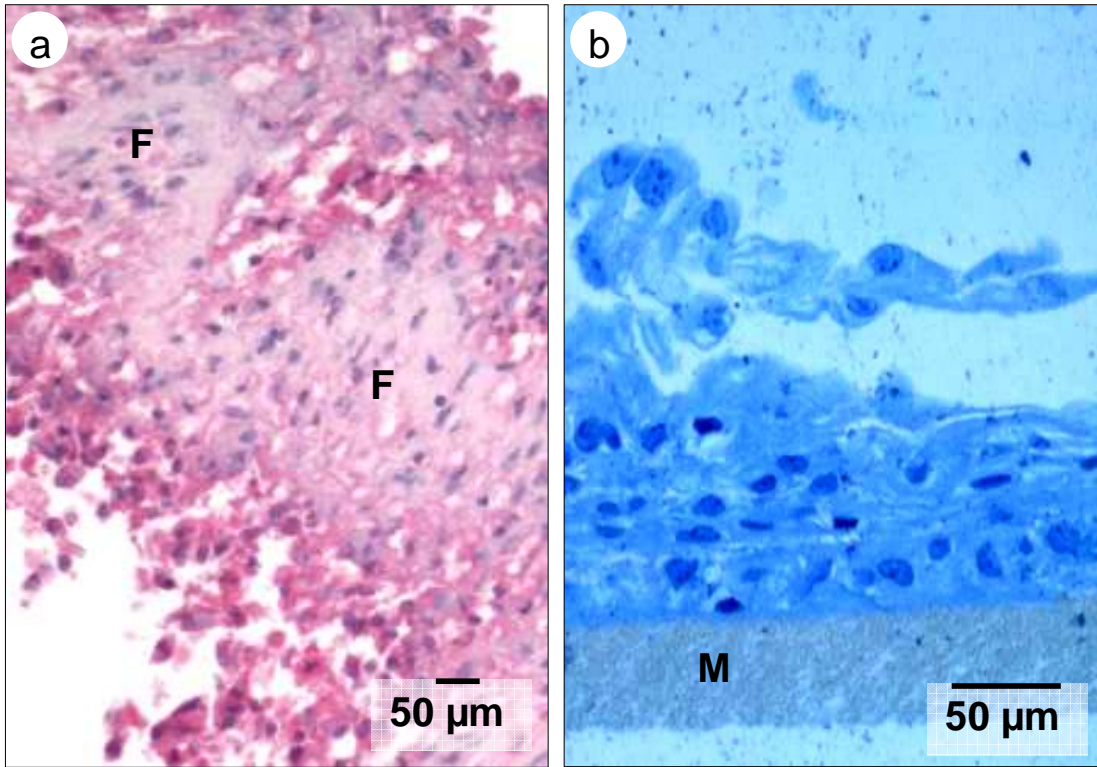


Abbildung 9

Gewebespezifisch differenzierte Kolonie

Abb. 9a: Ausschnitt aus dem Zentrum einer gewebespezifisch differenzierten Kolonie: die Zellschichten sind gut den jeweiligen Differenzierungsphasen zuzuordnen. Die Zellschichten mit den polygonalen Zellen, die untereinander mit stachelartigen Fortsätzen in Kontakt treten (**S**), können mit dem Stratum spinosum der Klauenepidermis verglichen werden. Superfiziell liegen unterschiedlich stark verhornte Zellen (**C**), hier dunkelblau angefärbt. Diese Zellschichten gleichen dem Stratum corneum der Klauenepidermis *in vivo*.
LM Präparat, Semidünnschnitt, Methylenblau-Azur-II

Abb. 9b: Ausschnitt aus dem Randbereich einer gewebespezifisch differenzierten Kolonie: in diesem Bereich liegen die Zellen der unterschiedlichen Differenzierungsstufen ungeordnet. Die Anzahl der ausgebildeten Zellschichten ist wesentlich geringer als in der Koloniemitte.
LM Präparat, Semidünnschnitt, Methylenblau-Azur-II

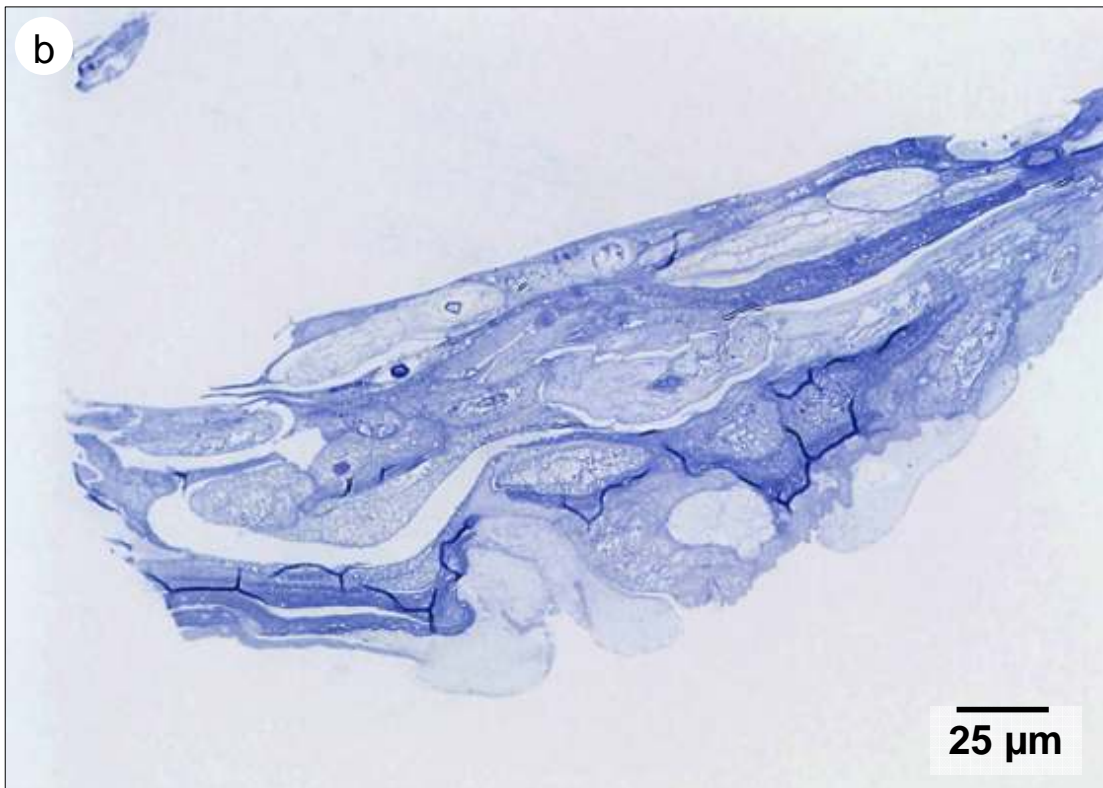
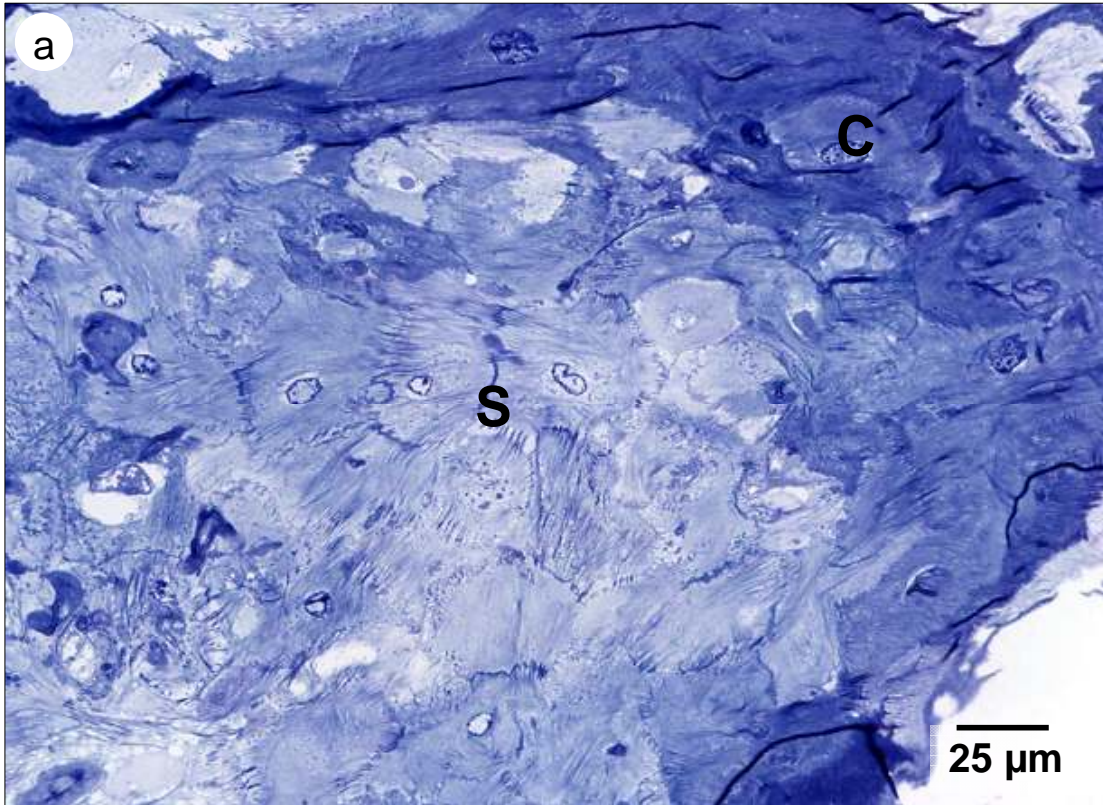


Abbildung 10

Basale Zellschicht einer gewebespezifisch differenzierten Kolonie

Abb. 10a: Eine Basalzelle: auffällig ist ein großer ovaler Zellkern (**ZK**) mit deutlichem Nukleolus. Im Zytoplasma sind neben wenigen Zellorganellen locker gebündelte Keratinfilamente (**KF**) sichtbar. Eine klar erkennbare Zellmembran ist nicht sichtbar.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 10b: Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 10a: immer wieder wurden in der basalen Zellschicht Keratinfilamente (**KF**) beobachtet, die direkt an den Zellkern (**ZK**) angelagert waren

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 10c: Eine am Kolonierand gelegene Zelle: im Gegensatz zu der in Abb. 10a dargestellten Basalzelle, ist hier eine elektronendichte Zellmembran deutlich zu erkennen. Neben dem Zellkörper liegen viele angeschnittene Fortsätze (**Pfeile**) der Zelle. Im Zytoplasma liegen wenig locker verteilte Keratinfilamente (**KF**).

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

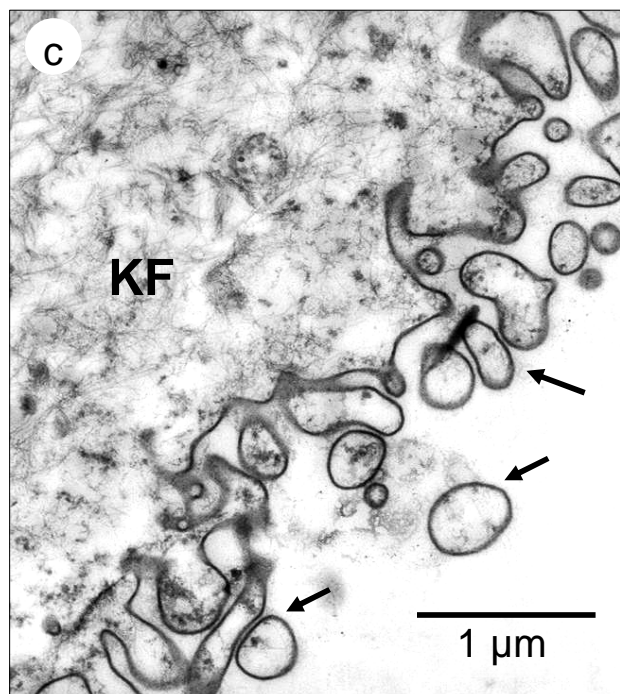
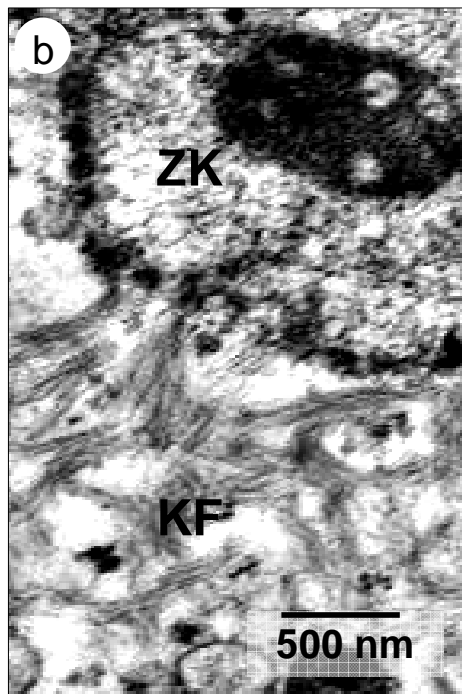
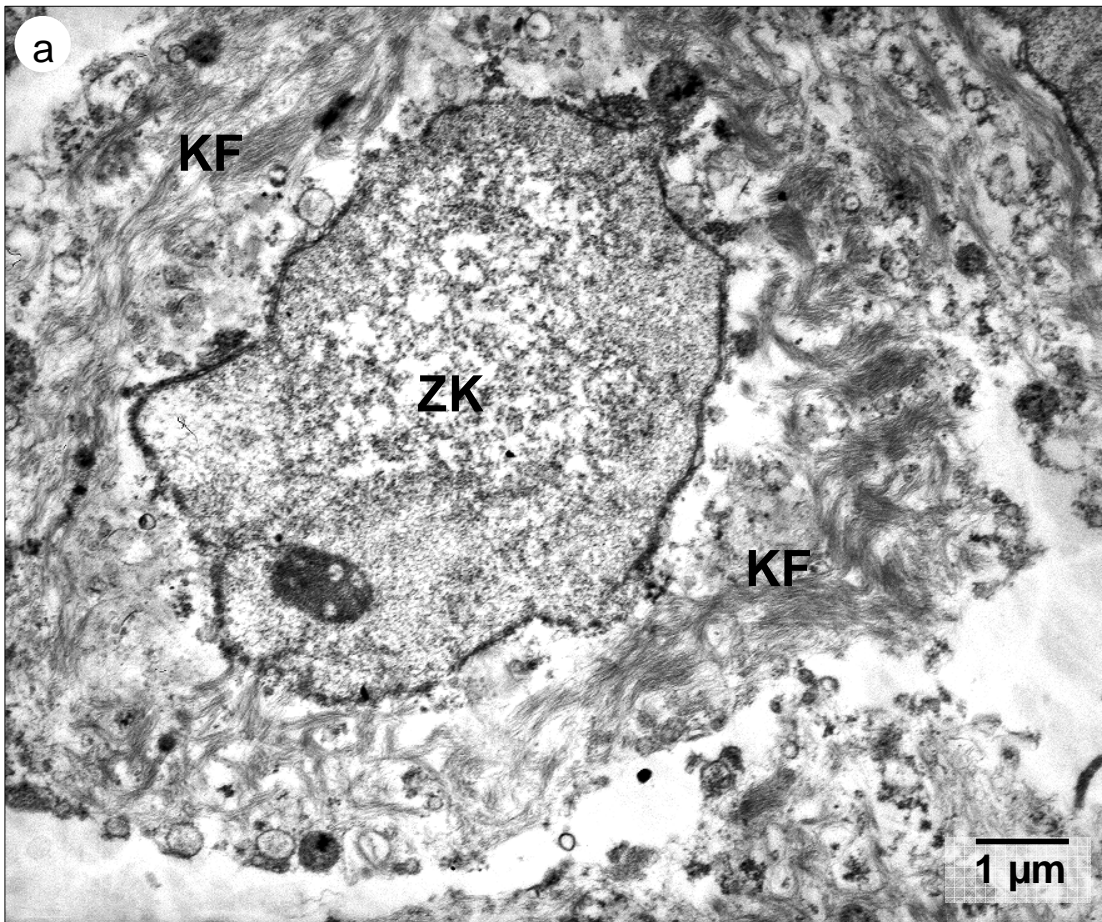


Abbildung 11

Intermediäre Zellschichten: Zellkerne

Abb. 11a: Zellkern (**ZK**) eines in den unteren Zellschichten gelegenen Keratinozyten: es ist ein abgegrenzter kertonfilamentfreier, perinukleärer Raum (**Stern**) deutlich zu erkennen. Das Chromatin des länglich ovalen Zellkerns ist partiell zu Schollen kondensiert. Es liegt überwiegend an der Innenseite der Kernmembran. Im Zytoplasma befinden sich locker gepackte Keratinfilamentbündel (**KF**).

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 11b: Zellkern (**ZK**) eines Keratinozyten aus den obersten Lagen der intermediären Zellschichten: der filamentfreie, perinukleäre Raum (**Stern**) ist wesentlich schmaler geworden und an einigen Stellen ganz verschwunden. Dort liegen die dicht gepackten Keratinfilamentbündel (**KF**) direkt neben dem Zellkern. Das Chromatin ist stark kondensiert und liegt bevorzugt in großen Klumpen an der Kernmembran.

Des Weiteren verdeutlicht diese Abbildung, dass innerhalb der Kolonie die Anzahl der Keratinfilamente sowie deren Bündelung auch zwischen benachbarten Zellen stark variieren kann.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

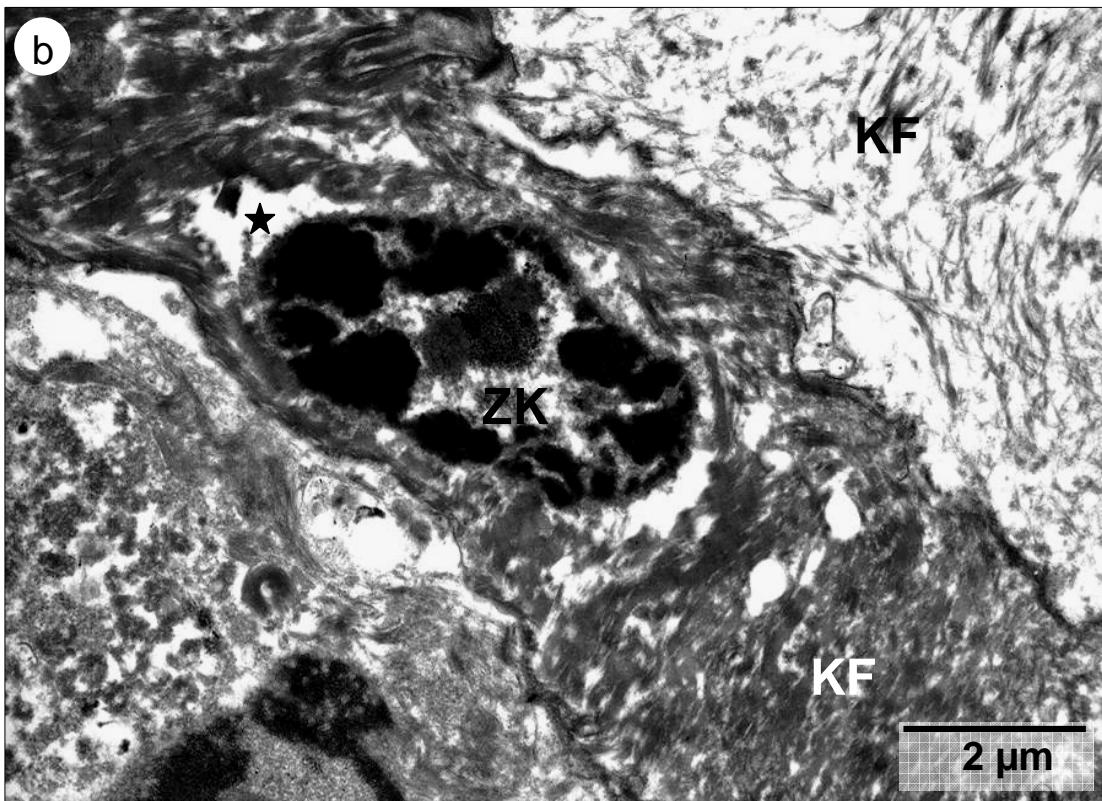
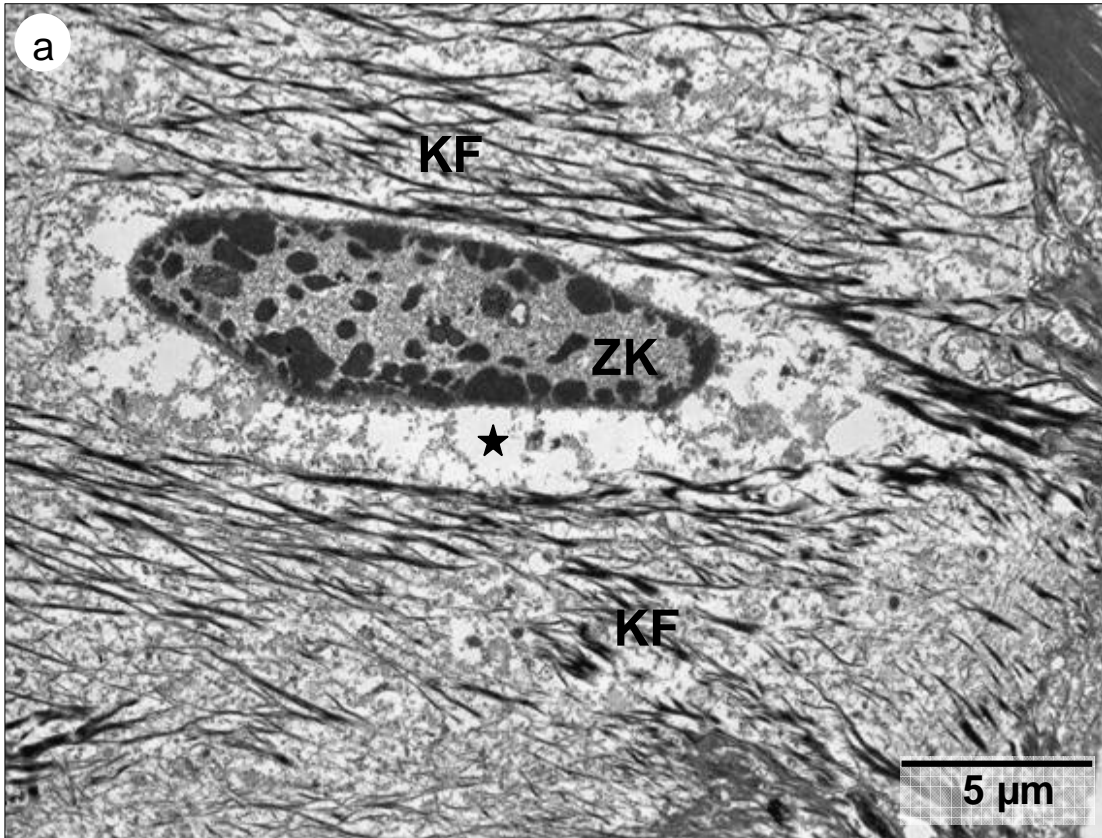


Abbildung 12

Intermediäre Zellschichten: räumliche Anordnung der Keratinfilamente und Desmosomenbildung

Abb. 12a: Die Verlaufsrichtung der Keratinfilamente (**KF**) ändert sich oft von Zelle zu Zelle.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 12b: Die Neubildung eines Desmosoms I: neben einem bereits vollständig ausgebildeten Desmosom (**D**) ist die Entstehung eines neuen Desmosoms (**Pfeil**) sichtbar. In diesem Bereich ist der Interzellularspalt (**Stern**) sehr stark verengt und die Zellmembranen der Zellen sind leicht verdickt. Vereinzelt Keratinfilamente (**KF**) strahlen in dieses Gebiet ein.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 12c: Die Neubildung eines Desmosoms II: in dieser Abbildung erkennt man, dass es an den Innenseiten der Zellmembranen zu Verdickungen (**Pfeile**) kommt. Hier entstehen die intrazellulären Haftplatten des Desmosoms. Einige Keratinfilamente (**KF**) strahlen in diesen Bereich ein.

Stern: Interzellularspalt

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

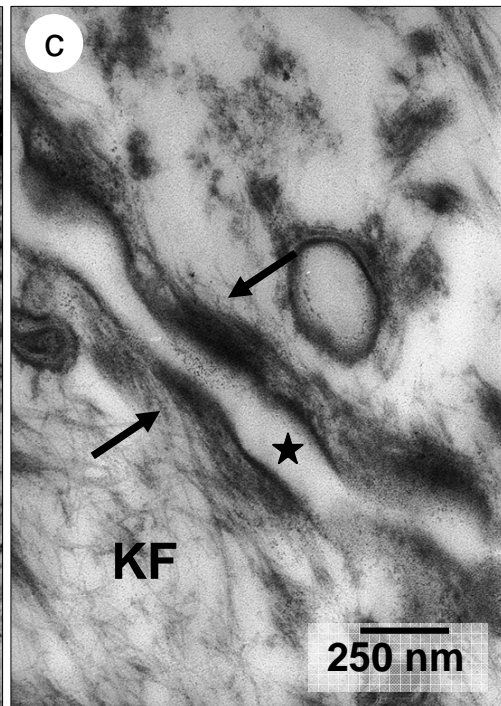
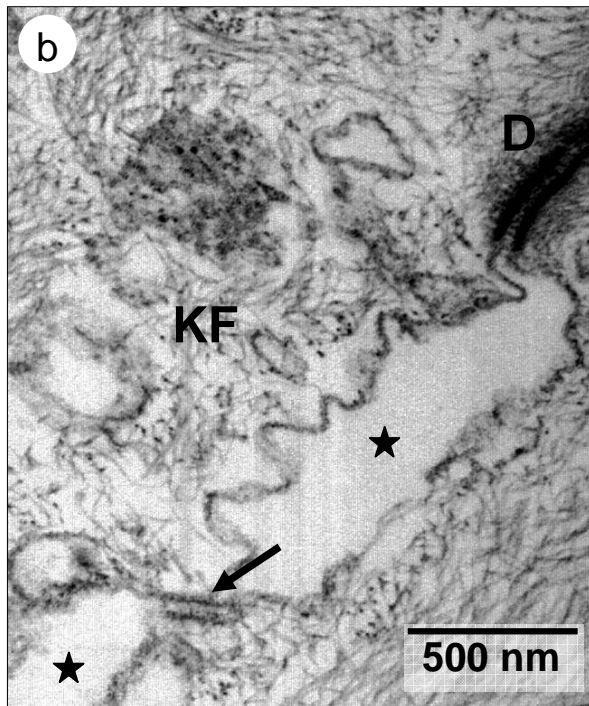
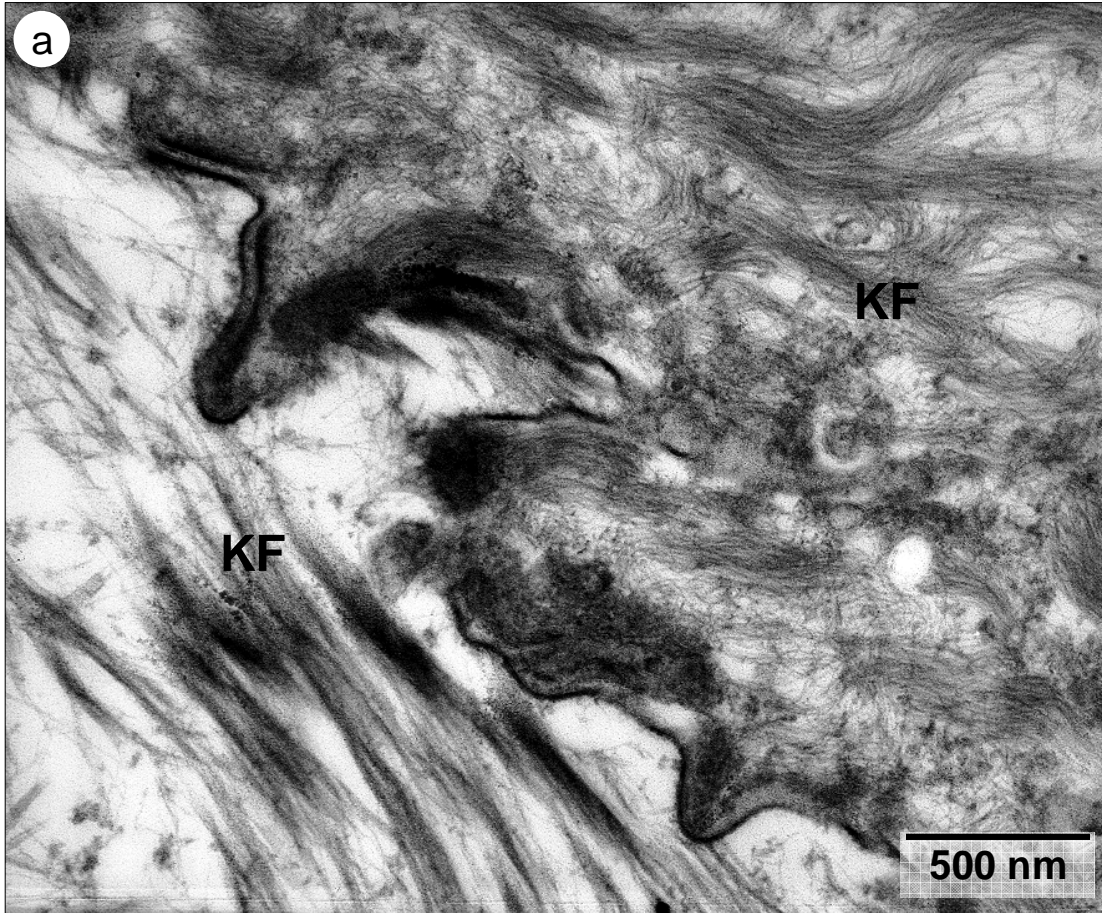


Abbildung 13

Intermediäre Zellschichten: Zellkontakte

Abb. 13a: Ein Desmosom zwischen zwei Zellen der intermediären Zellschichten: desmosomaler Haftkitt (**Punkt**) ist zwischen den intrazellulären Haftplatten (**Pfeile**) erkennbar. In die intrazellulären Haftplatten strahlen sowohl längs als auch quer angeschnittene Keratinfilamente (**KF**) ein.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 13b: Unterschiedliche Zellkontakte zwischen zwei Zellen der intermediären Zellschichten: links sind drei Desmosomen (**D**), die über Keratinfilamente (**KF**) am Zytoskelett verankert sind, dargestellt. Rechts ist ein gap junction (**Pfeile**) sichtbar, hier liegen Zellmembranen der benachbarten Zellen eng aneinander.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

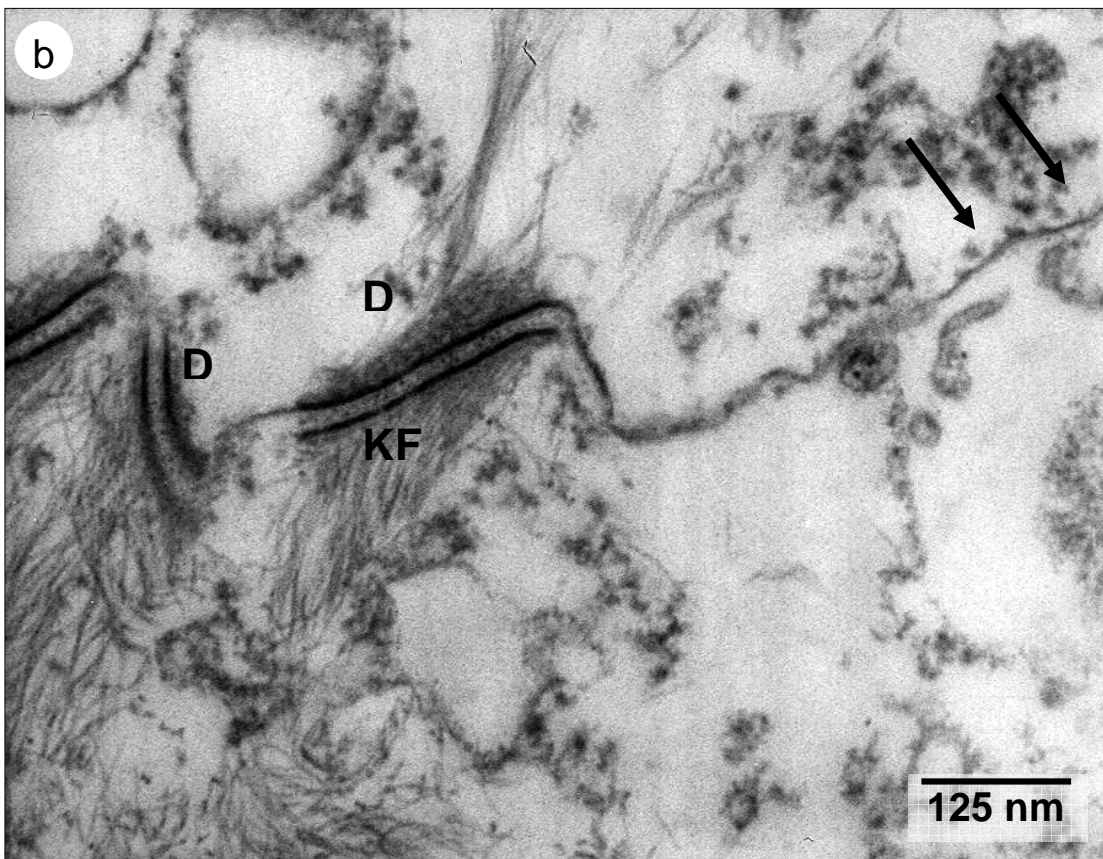
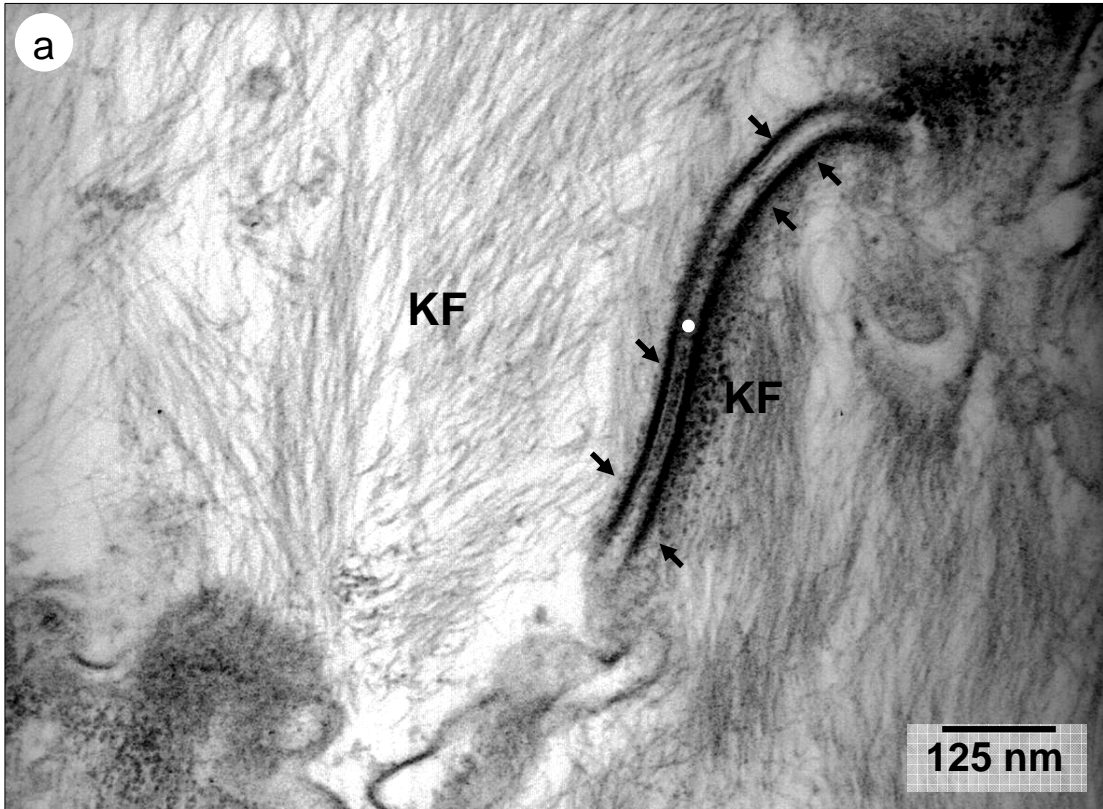


Abbildung 14

Intermediäre Zellschichten: Membrane coated granules (MCGs) und cornified envelope

Abb. 14a: Ein MCG (**Blockpfeil**), das unter der Zellmembran (**Pfeilköpfe**) einer Zelle der oberen Zellschichten der intermediären Zellschichten gewandert ist.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 14b: Ein MCG in einer Zelle der oberen Zellschichten der intermediären Zellschicht. Die Hüllmembran (**Pfeilköpfe**) ist gut erkennbar. Im Inneren (**Stern**) sind planlos durcheinanderliegende Membranen sichtbar.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 14c: Anlagerung der cornified envelope (**Pfeilköpfe**): in den oberen Zellschichten der intermediären Schichten wurde regelmäßig die Anlagerung eines elektronendichten cornified envelope an die Innenseite der Zellmembran beobachtet.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

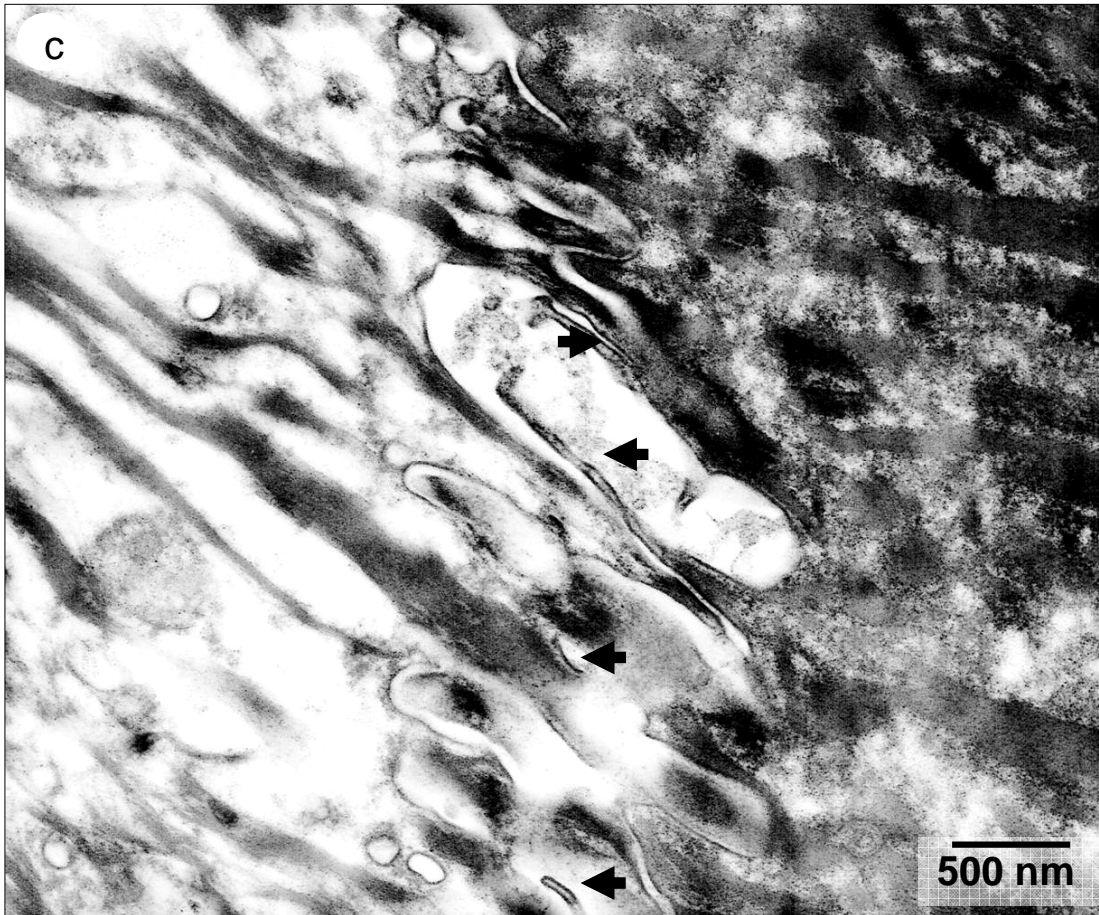
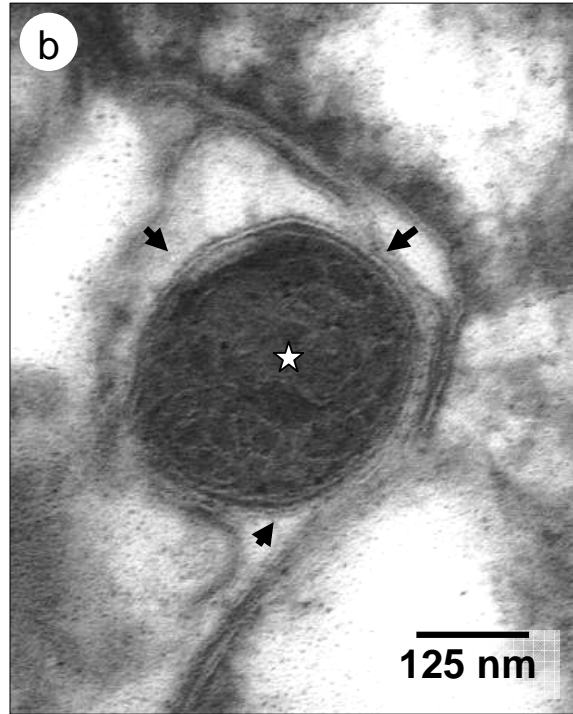
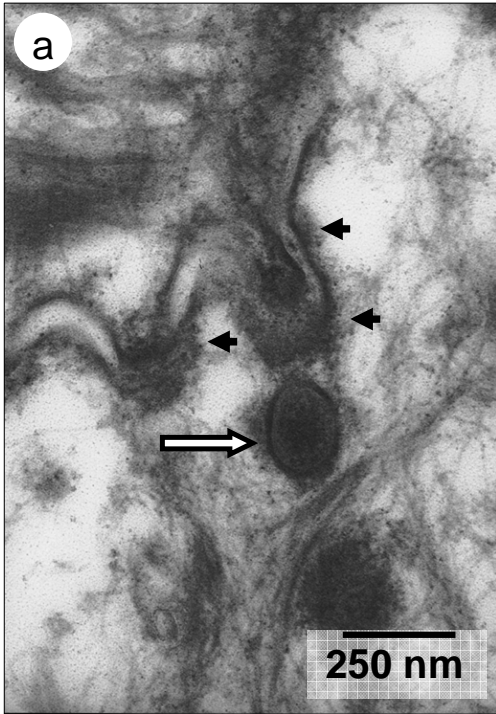


Abbildung 15

Intermediäre Zellschichten: Interzellularkitt

Abb. 15a: Interzellularkitt I: blasige Erweiterungen des Interzellularspaltes gefüllt mit feinkörnigem Interzellularkitt (**Stern**). Interzellularkitt ist ab den mittleren Zelllagen der intermediären Zellschichten sichtbar.

KF: Keratinfilamente

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 15b: Interzellularkitt II: blasige Erweiterung des Interzellularspaltes gefüllt mit grobkörnigem, elektronendichteren Interzellularkitt (**Stern**). Die Zellen sind fast vollständig mit Keratinfilamenten (**KF**) ausgefüllt.

D: Desmosom; **Pfeil:** Anschnitt eines Zellfortsatzes

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

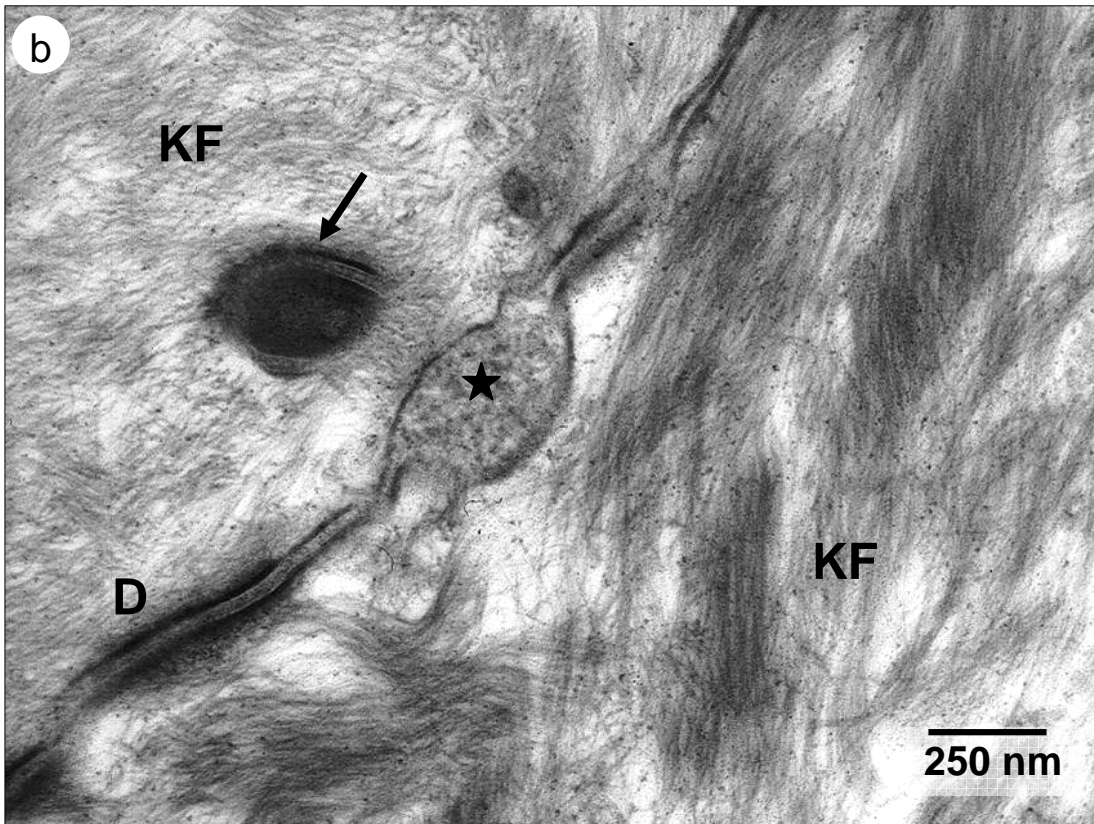
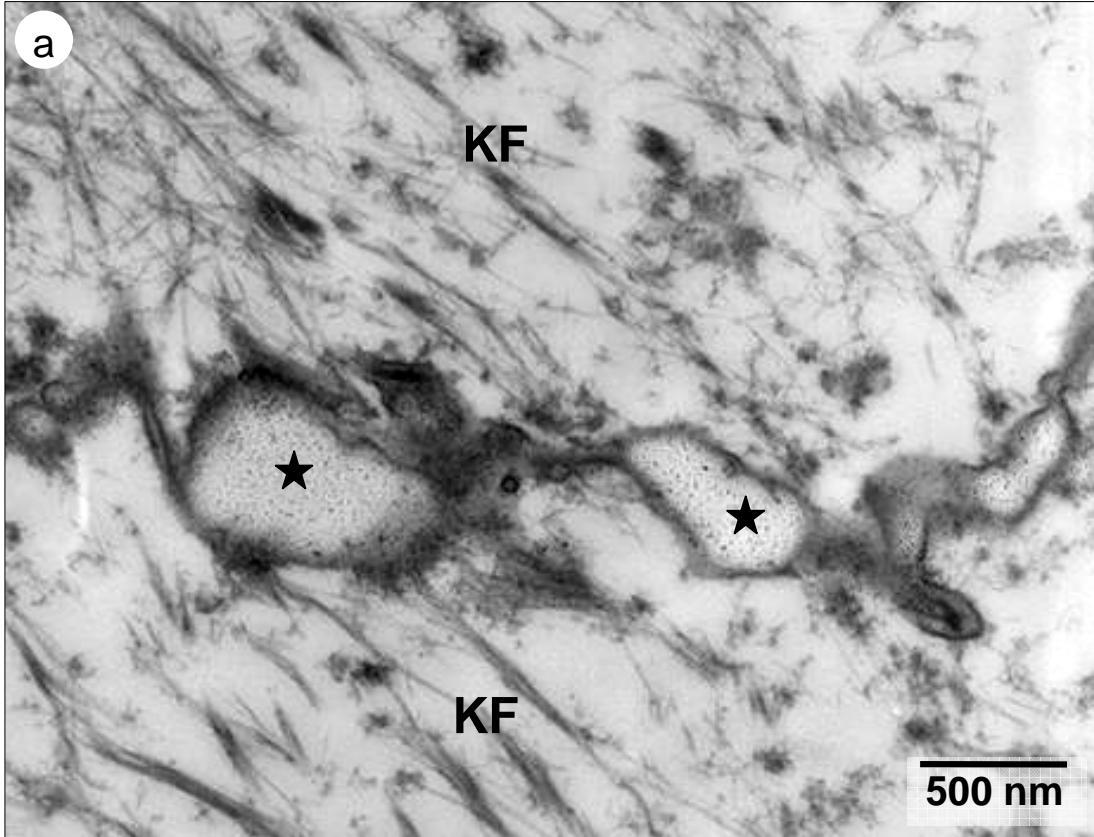


Abbildung 16

Superfizielle Zellschichten

Abb. 16a: Zwischen den verhornten Zellen ist ein erweiterter Interzellularspalt sichtbar, der mit Interzellularkitt (**Stern**) angefüllt ist.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 16b: Verzahnung von zwei nebeneinander liegenden unvollständig verhornten Zellen durch wellenförmige Ausstülpungen der Zellmembranen.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

Abb. 16c: Eine mit soliden Hornmassen ausgefüllte Zelle (**H**), die stellvertretend für superfiziellen Zellschichten die räumliche Anordnung innerhalb der Kolonie verdeutlichen soll.

TEM Präparat, OsO₄-Fixierung

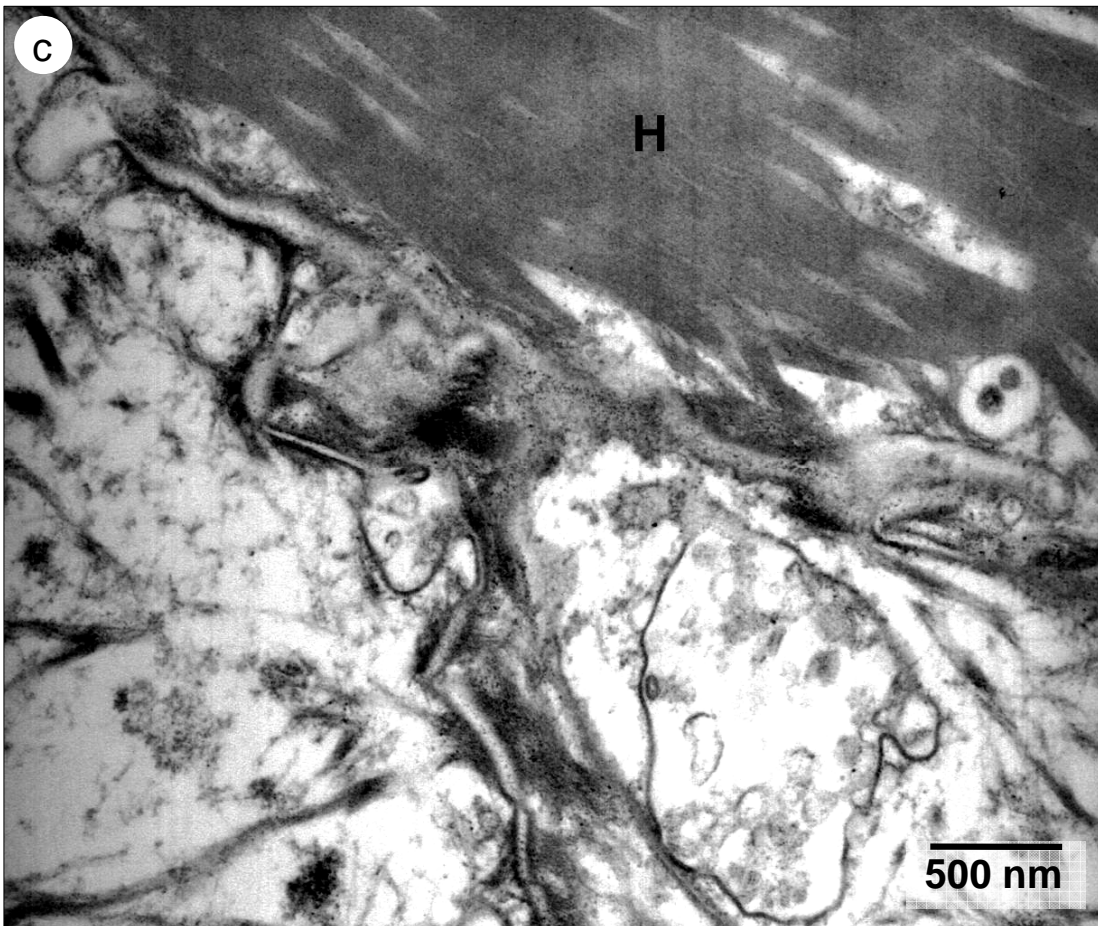
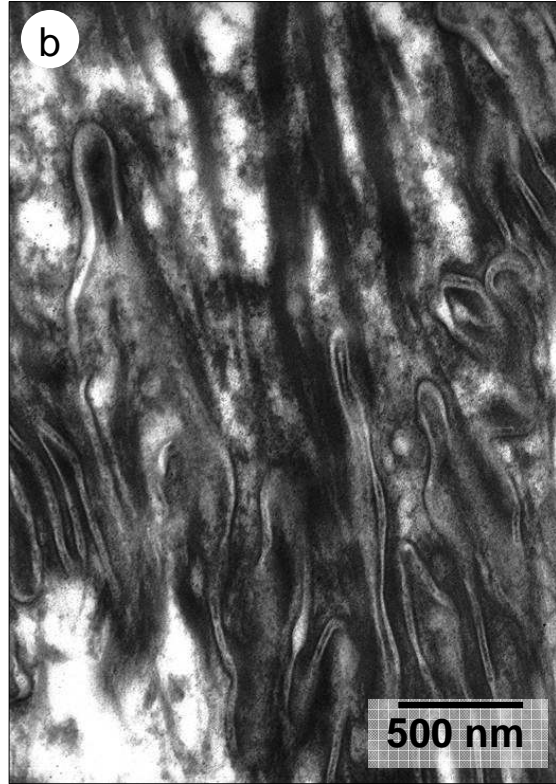


Abbildung 17

Immunhistochemische Nachweismethoden von Keratinfilamenten

Abb. 17a: Nachweis von Keratinfilamenten (**KF**) mit dem monoklonalen Antikörper AE 3: Darstellung der primären Antikörperreaktion durch eine spezifische Markierung mit 10 nm großen, an Protein-A gebundenen Goldpartikeln.
TEM Präparat, immunogold labeling

Abb. 17b: Nachweis von Keratinfilamenten (**KF**) mit dem monoklonalen Antikörper AE 1: Darstellung der primären Antikörperreaktion durch eine Markierung mit 10 nm großen, an Protein-A gebundenen Goldpartikeln.
TEM Präparat, immunogold labelling

Abb. 17c: Nachweis von Keratinfilamenten mit einem ELISA *in vitro* unter Verwendung des monoklonalen Antikörpers AE 3.
Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

Abb. 17d: Nachweis von Desmoglein, einem Baustein der Desmosomen mit einem ELISA *in vitro* unter Verwendung des Primärantikörpers rabbit anti-pan desmoglein.
Invert-Mikroskop, Phasenkontrastaufnahme

