

(Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Medizinischen Akademie Danzig. — Leiter: Prof. Dr. med. Dr. jur. *Otto Schmidt*.)

Potentiometrische Untersuchungen über die Reduktionsvorgänge in der Leiche und in Leichenorganen¹.

Von
O. Schmidt.

(Eingegangen am 2. Februar 1943.)

Mit dem Eintritt des Todes und dem Aufhören der Zirkulation wird jede einzelne Körperzelle von ihrer Sauerstoffversorgung abgeschnitten. Ihr Sauerstoffbedürfnis und Stoffumsatz erlöschen hierdurch nicht. Der Sauerstoff des Hämoglobins und alle sonstigen einer Oxydation fähigen und zugänglichen Substanzen werden von der Zelle erfaßt. Mit ihrem Verbrauch wird das Zellpotential immer negativer.

Das postmortale Absinken des Zell- und Gewebepotentials ist gerichtsärztlich bedeutungsvoll: Die Farbe der Totenflecke, die Haltbarkeit des Methämoglobins, das Auftreten von Sulfhämoglobin, die Bildung von Hämochromogenen, die Veränderung, die eingeführte Giftstoffe erfahren, und das Entstehen der verschiedenartigsten Fäulnis- und Zersetzungsprodukte sind von Reduktions- und Oxydationsvorgängen abhängig.

Die Oxydation- bzw. Reduktionsstärke einer Lösung wird durch das Maß des elektrischen Potentials (ausgedrückt in Volt oder Millivolt) definiert, das die Lösung gegenüber einer bekannten Vergleichselektrode einnimmt. Als Norm gilt die „Normalwasserstoffelektrode“, ein platinisiertes Platinblech, das in einer Lösung von $p_H 0$ von Wasserstoff einer Atmosphäre umspült wird.

Versuche, die Reduktionsstärke in Leichen oder faulenden Leichenorganen mit Hilfe einer Platinelektrode direkt zu messen, gelingen nicht. Konstante und definierbare Werte zu erhalten, ist nicht möglich. Die Platinelektrode ist für die Messung nicht einheitlicher und durch organische Substanzen verunreinigter Flüssigkeit oder von zelligem Material nicht geeignet. Der Schwefelwasserstoff lähmt außerdem ihre Wirksamkeit.

Die Untersuchungen wurden mit Hilfe reversibler Farbstoffe bekannter Redoxstellung vorgenommen. Für die Messung biologischer Systeme ist dieses Verfahren schon gelegentlich benutzt worden. In-

¹ Herrn o. ö. Prof. emer. Dr. *Karl Reuter* zum 2. III. 1943, seinem 70. Geburtstag, gewidmet.

injizierte Farbstofflösungen ergeben über die postmortal auftretenden Reduktionsvorgänge sehr instruktive Bilder. Intensiv gefärbte Leichen oder Leichenorgane werden an den Stellen des Sauerstoffabschlusses nach einiger Zeit völlig entfärbt. An der Luft tritt die ehemalige Färbung wiederum auf. Schließt man die Schnittflächen vom Luftzutritt ab, werden sie erneut entfärbt und bei Sauerstoffzutritt wiederum gefärbt. Dieses Spiel läßt sich beliebig oft wiederholen. Benutzt man zur Injektion einen Farbstoff, dessen Redoxstellung bekannt ist, dann kann man aus dem entfärbten Zustande auf ein maximales Potentialniveau, bei dem die Entfärbung eintritt, schließen. Durch die Benutzung mehrerer Farbstoffe läßt sich das Potential weiter einengen und genauer bestimmen. Die Methode hat den Fehler, daß der natürliche Ablauf der Reduktionsvorgänge durch die Farbstoffindikatoren ein wenig verändert wird. Die injizierte Flüssigkeit ist sauerstoffhaltig, und der Farbstoff selbst ist eine Oxydationssubstanz, die das zu messende System beschwert. Bei der Verwendung möglichst geringer und jeweils gleicher Flüssigkeit und Farbstoffmengen ist die Belastung des Systems bei allen Untersuchungen gleich. Sie wird sich lediglich als eine gleichbleibende Verzögerung des Reduktionsablaufes auswirken.

Das Potential eines reversiblen Farbstoffes wird von dem Mischungsverhältnis des oxydierten und reduzierten Anteils und dem p_H der Lösung bestimmt. Den vorliegenden Untersuchungen ist ein jeweiliges p_H von 7,0 zugrunde gelegt, eine Annahme, die mit geringen Abweichungen wohl als zutreffend gelten darf. Bei gleichbleibendem p_H gilt die Formel: $E = E_0 + 0,03 \times \log \frac{\text{Farbstoff}}{\text{Leukofarbstoff}}$. Ist das Mengenverhältnis zwischen oxydiertem Farbstoff und seinem Leukoanteil gleich, dann ist $\frac{\text{Farbstoff}}{\text{Leukofarbstoff}} = 1$; $\log 1 = 0$. Mithin entfällt die Größe $0,03 \times \log \frac{\text{Farbstoff}}{\text{Leukofarbstoff}}$ und $E = E_0$. Unter diesen Bedingungen ist das Potential der Lösung gleich E_0 , dem „Normalpotential“ des Farbstoffes. Es ist dieses die das reversible Farbstoffsystem charakterisierende und konstante Größe.

Die Farbintensität einer Farbstofflösung steht zu dem Mischungsverhältnis in keiner direkten Beziehung. Ein 50proz. Farbstoff- und Leukofarbstoffgemisch ist für das Auge von gleicher Farbe wie eine völlig oxydierte Farbstofflösung. Ein 70proz. Reduktionsgrad zeigt eine eben erkennbare Entfärbung. Bereits deutlich entfärbt erscheint ein 80proz. Reduktionsgemisch. Nahezu entfärbt ist ein 90proz. Reduktionsgrad. Völlig entfärbt erscheint die Farbstofflösung, wenn 95% des Farbstoffes in Leukoform vorliegt. In gefärbten mikroskopischen Schnitten, mitunter auch im Gewebe, kann man alle Stadien

der Entfärbung beobachten und hieraus das herrschende Potential berechnen. Eine völlig oxydierte Farbstofflösung, bei der das Verhältnis oxydiert zu reduziert = ∞ zu 0 ist, hat das theoretische Potential $+\infty$. Ein 50proz. Mischungsverhältnis entspricht dem Normalpotential E_0 . Bei einem 70proz. Reduktionsgrad berechnet sich $E = E_0 - 11$ Millivolt. Bei 80proz. ergibt die Lösung $E = E_0 - 18$ Millivolt. Die 90proz. reduzierte Lösung hat $E = E_0 - 29$ Millivolt. Die 95proz. $E_0 - 38$ Millivolt. Der rein reduzierte Zustand besitzt das theoretische Potential $-\infty$. Erscheint ein injiziertes Gewebe völlig entfärbt, dann sind mindestens 90—95% Farbstoffteile reduziert worden. Das Potential ist negativer als $E_0 - 29$ Millivolt.

Tabelle der benutzten Farbstoffindikatoren.

Nr.	Farbstoff	Normalpotential (E_0) bei p_H 7,0
1	Bindschedlers Grün*	+224 m.V.
2	2,6-Dichlorphenolindophenol	+217 „
3	Methylengrün*	+120 „
4	Toluylenblauschlorid*	+115 „
5	Kresylblauschlorid	+ 47 „
6	Gallocyanin	+ 21 „
7	Thionin*	+ 18 „
8	Methylenblauschlorid*	+ 11 „
9	Thioninblau* G.O.	- 66 „
10	Toluidinblau*	- 15 „
11	Neumethylenblau N.S.S.*	- 38 „
12	Indigotetrasulfonat	- 46 „
13	Azur I*	- 60 „
14	Indigotrisulfonat	- 81 „
15	Indigodisulfonat	-125 „
16	Gallophenin	-142 „
17	Kresylviolettchlorid	-166 „
18	Brillantalizarinblau*	-275 „
19	Neutralrotjodid	-300 „
20	Phenosafranin	-525 „

Die Farbstoffe Nr. 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 16 sind Erzeugnisse der I. G. Farbenindustrie. Nr. 1, 2, 4, 6, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20 von der Firma Dr. G. Grübler & Co. oder Hollborn & Söhne, Leipzig, bezogen.

Die Normalpotentiale einer größeren Zahl reversibler Farbstoffe sind bekannt. Die Messungen sind vorzüglich von *W. Clark* und *B. Cohen*, *B. Chambers*, *P. Reznikoff*, *I. B. Conant* und Mitarbeitern vorgenommen. Die von mir benutzten Farbstoffe sind in Tab. I zusammengestellt. Ich benutzte vorzüglich Thiazine, ferner Indophenole und Indigofarbstoffe. Das Farbstoffpotential ist von dem Reinigungsgrad abhängig. Die mit * bezeichneten Werte sind durch eigene Messungen, die ich durch das

liebenswürdige Entgegenkommen von Herr Professor *Hertel* im Physikalisch-Chemischen Institut der T. H. Danzig vorgenommen habe, ermittelt. Herrn Professor *Hertel* und seinem Assistenten, Herrn Dr. *Lebok*, bin ich für die mir gewährte Unterstützung dankbar. Neben Farbstoffen, deren Normalpotential bekannt ist, erweiterte ich die Untersuchungen auf eine Reihe bisher nicht gemessener Thiazine. Die Untersuchung beschränkte sich auf den neutralen Bereich, dessen p_{H} durch Phosphatpuffer eingestellt wurde.

Messungen bekannter Mengen oxydierter und reduzierter Farbstoffanteile wurden gegen eine Normalkalemolektrode vorgenommen und auf die Wasserstoffelektrode umgerechnet. Methode und Protokolle hier näher mitzuteilen, liegt nicht im Rahmen dieser Arbeit.

I.

Tierexperimentelle Untersuchungen.

Ein 3,6 kg schweres Kaninchen, das in Äthernarkose durch Entbluten getötet wurde, enthielt gleich nach dem Tode 300 ccm einer 0,001 molaren Dichlorphenolindophenollösung ($E_0 = + 217 \text{ m.V.}$) in die Brustorta injiziert. Die Haut und Schleimhaut der Schnauze und des Rachens waren deutlich blau gefärbt. An den bedeckten Schleimhautstellen verschwand die Farbe nach 2--3 Minuten. Bei Luftzutritt verfärbten sich diese Stellen erneut. Nach Luftabschluß wurde der Farbstoff wiederum reduziert. Die luftzugängige Haut und Schleimhaut blieben dagegen blau gefärbt. Bei Einschneiden der Haut war lediglich die oberflächliche capillare Schicht der Hautgefäße blau. Subcutis, Fett, Bindegewebe, Fascien und Muskulatur waren entfärbt. Die Schnittfläche wurde an der Luft blau.

Ähnlich schnell trat auch die Farbstoffreduktion an den inneren Organen ein. Nach 10 Minuten war die Schnittfläche sämtlicher Bauchorgane entfärbt. Lediglich die großen Gefäße enthielten das Dichlorphenolindophenol noch gefärbt. An der Luft wurden die Schnittflächen der Organe zusehends blau. Nach einer $\frac{1}{2}$ Stunde war auch der Gefäßinhalt farblos geworden.

Das Dichlorphenolindophenol ist in seiner Redoxstellung stark positiv. Es ist positiver als das Hämoglobin-Oxyhämoglobin-System. Wird eine mit Dichlorphenolindophenol versetzte Oxyhämoglobininlösung langsam mit Natriumhydrosulfit reduziert, dann verschwindet bei sinkendem Potential zunächst die Farbe des Farbstoffes, und erst nach seiner Entfärbung geht das Oxyhämoglobin in Hämoglobin über.

An den entfärbten Stellen ist das Potential negativer als $+ 188$ Millivolt. Diese Potentialstellung wird vom Gewebe nach eingetretenem Tode sehr schnell und bereits nach wenigen Minuten erreicht. In luftzugänglichen Haut- und Schleimhautbezirken sinkt das Potential bis zur

Entfärbung des Dichlorphenolindophenol nicht herab. Das Potential bleibt hier positiver als + 206 m. V.

Bei der Verwendung von *Azur I* ($E_0 = -60$ m. V.) (300 ccm einer 0,001 molaren Lösung) wurden Haut- und Schleimhaut nach der Injektion deutlich blau gefärbt. An den luftabgeschlossenen Schleimhautstellen trat nach 5—10 Minuten Entfärbung ein. Die luftzugänglichen Haut- und Schleimhautbezirke blieben dagegen gefärbt. Die inneren Organe, selbst die lufthaltigen Lungen waren nach 4 Stunden völlig entfärbt. Bei Luftzutritt wurden die entfärbten Stellen wiederum zusehends blau. An der Haut zeigte sich nur die oberflächliche capilläre Schicht als schmaler Streifen gefärbt. Die darunterliegenden Teile waren sämtlich farblos und wurden bei Luftzutritt wiederum blau.

An den entfärbten Stellen ist das Potential negativer als — 89 m. V. Dieses Potential wird an luftabgeschlossenen Schleimhautstellen bereits nach wenigen Minuten erreicht. Nach 4 Stunden waren alle von der Luft abgeschlossenen Gewebe entfärbt. Lediglich in den luftzugänglichen Haut- und Schleimhautabschnitten blieb das Potential positiver als — 71 m. V. ($E_0 = 11$ m. V.).

Die Redoxstellung von *Azur I* ist negativer als das Hämoglobin-Oxyhämoglobinsystem. Es ist auch negativer als das Hämoglobin-Methämoglobin. Die Haltbarkeit dieser Systeme ist bei einem Zustand, der *Azur I* entfärbt, nicht mehr möglich.

In einem weiteren Versuch wurden 20 ccm einer 0,02 molaren *Gallopheninlösung* ($E_0 = -142$ m. V.) einem lebenden Kaninchen (1500 g) in die Ohrvene injiziert. Haut und Schleimhäute wurden deutlich blau gefärbt. Nach 15 Minuten wurde das Tier durch Narkose getötet. Bei der Sektion, die 15 Minuten p. m. vorgenommen wurde, waren das Gewebe und sämtliche Organe der Brust- und Bauchhöhle blau. Nach 1 Stunde ergab sich noch das gleiche Bild. Erst 20 Stunden nach dem Tode zeigte sich an luftgeschützten Stellen und auf den Schnittflächen der inneren Organe eine beginnende Entfärbung. 24 Stunden nach dem Tode waren die Bindehäute und die Schleimhaut des Rachens an den bedeckten Stellen entfärbt. Die luftzugänglichen Bezirke waren nach wie vor blau. Die Haut war ebenfalls blau. Das Unterhautgewebe war entfärbt. Lungen, Herzmuskel, Leber, Milz, Bauchfell, Muskulatur, Gehirn und Hirnhäute waren farblos. Lediglich die Pyramiden der Nieren, die Harnleiter, Harnblase und der Urin waren auf frisch angelegten Schnitten noch ein wenig bläustichig, ein Verhalten, das offenbar auf eine Farbstoffanreicherung durch Ausscheidungsvorgänge zurückzuführen ist. Auch der Inhalt der großen Gefäße war noch nicht völlig entfärbt. An der Luft trat schnell Blaufärbung auf. Fäulniserscheinungen lagen nicht vor. Die Totenstarre war noch schwach vorhanden.

Das Potential der Entfärbung, das in luftgeschütztem Gewebe bei Zimmertemperatur etwa nach 24 Stunden erreicht wird, ist negativer als -171 m. V.

Brillantalizarinblau (300 ccm einer 0,001 molaren Lösung) einem entbluteten Kaninchen (1200 g) in die Brustorta injiziert, wurde erst nach Auftreten starker Fäulnis- und Zersetzungserscheinungen am 4. Tage entfärbt. Haut- und Schleimhäute blieben an unbedeckten Körperstellen violettblau. Das Reduktionspotential ist negativer als -304 m. V.

Wollte man die aus diesen Tierversuchen gewonnenen Ergebnisse graphisch darstellen, so würde sich für den zeitlichen Abfall des Potentials an luftgeschützten Organen ein Kurvenverlauf ergeben, der zunächst einen steil abfallenden und später einen flacheren Verlauf zeigt. Schon nach wenigen Minuten ist das Potential negativer als $+198$ m. V. Nach 5—10 Minuten ist es negativer als -89 . Der Wert von -171 m. V. wird erst nach etwa 24 Stunden erreicht. Die Reduktionsstärke von -304 m. V. entsteht erst bei hochgradiger Allgemeinfäulnis. Auffallend ist, daß die Reduktionsgeschwindigkeit der einzelnen inneren Organe annähernd gleich ist. Diese Feststellung bedarf jedoch noch weiterer eingehender Untersuchungen. An luftzugänglichen Haut- und Schleimhautstellen tritt ein Potentialabfall, der das Dichlorphenolindophenol entfärbt, nicht ein. Die Schleimhaut und Haut des Kaninchens ist für den Luftsauerstoff leicht durchgängig. Das Potential bleibt positiver als $+206$ m. V.

II.

Das Potential innerer Organe und Gewebe menschlicher Leichen.

Das in menschlichen Leichen herrschende Potentialniveau wurde durch subcutane und intramuskuläre Farbstoffinjektionen bestimmt. In anderen Untersuchungen erfolgten die Messungen durch intravasculäre Farbstoffeinspritzungen.

Die Leiche eines Erhängten, die in ganz frischem Zustand etwa 15 Minuten nach eingetretenem Tode zur Untersuchung kam, erhielt an den Außenseiten beider Oberschenkel je 4 ccm einer 0,005 molaren Lösung von Dichlorphenolindiphenol, Methylengrün, Methylenblau, Azur I, Indigotrisulfonat und Brillantalizarinblau injiziert. Das Dichlorphenolindophenol war nach Verlauf von 4 Stunden farblos. Methylengrün war zu dieser Zeit im Zentrum der Injektion noch deutlich gefärbt. Methylenblau und Azur I waren lediglich an den Randstellen der injizierten Bezirke ein wenig abgeblaßt. An der Luft wurden die Schnittflächen wiederum gefärbt. Nach 15 Stunden waren die Farbstoffe mit Ausnahme des Brillantalizarinblaus völlig entfärbt. Die Entfärbung betraf in gleicher Weise das Unterhautgewebe, Muskulatur,

Fascien und Periost. Das zu dieser Zeit vorliegende Potential ist negativer als -110 m. V., aber positiver als -304 m. V.

Die subcutane Injektion führt, selbst wenn man den Farbstoff durch Massage möglichst verreibt, zu keiner gleichmäßigen Verteilung des Farbstoffes. Im Zentrum ist der Farbstoff angereichert. Er überwiegt hier die Äquivalentmengen der in den Leichenorganen vorliegenden Substanzen, denen gegenüber er als Indikator wirken soll. Der Reduktionsverlauf wird hierdurch in starkem Maße verzögert.

Benutzt man zur Injektion eine Farbstofflösung aus zwei oder mehreren Farbstoffen, die sich in Farbe und Redoxstellung unterscheiden, dann wird bei fortschreitender Fäulnis zunächst die potentialpositivere Substanz entfärbt. Das Gewebe erfährt hierdurch eine entsprechende Farbänderung. Ein Farbstoffgemisch aus gleichmolaren Anteilen von Methylengrün ($E_0 = +120$ m. V.), Methylenblau ($E_0 = +11$ m. V.) und Neutralrotjodid ($E_0 = -300$ m. V.) wurde in der Leiche nach 15 Stunden so weit reduziert, daß die Injektionsstelle nur noch rot gefärbt erschien. Methylengrün und Methylenblau waren entfärbt. Bei Luftzutritt wurde die Schnittfläche zunächst schmutziggrau, dann schmutziggrün und schließlich blaugrau. *Es liegt der Gedanke nahe, derartige Farbstoffgemische für die Ermittlung der Todeszeit heranzuziehen.* Die Erfahrung lehrt jedoch, daß der zeitliche Abfall des Potentials in sehr weitgehendem Maße von Temperatur und anderen die Fäulnis bestimmenden Einflüssen abhängt.

Eindeutiger läßt sich das herrschende Reduktionspotential durch intravaskuläre Farbstoffinjektionen bestimmen. Dichlorphenolindophenol, in die Schenkelarterie eines Neugeborenen 12 Stunden p. m. injiziert, war 2 Stunden später mit Ausnahme des Inhalts der großen Gefäße völlig entfärbt. Methylengrün und Methylenblau wurden in der gleichen Zeit ebenfalls farblos, lediglich der Inhalt der Gefäße war noch deutlich gefärbt. Die Reduktion betraf im übrigen sämtliche unter der Haut liegenden Weichteile. Die Schnittflächen wurden an der Luft wiederum gefärbt. Das Potential liegt demnach negativer als -18 m. V. Bei einer hochgradig faulen Wasserleiche wurde Methylenblau innerhalb 1 Stunde farblos. Die oberflächliche Haut blieb gefärbt. Azur I, das einem Neugeborenen in die Halsschlagadern eingespritzt wurde, war im Gehirn am 3. Tage völlig reduziert. Bei der Herausnahme war das Gehirn ein weicher, graugelblicher Brei, der an der Luft zusehends in ein tintenfarbiges Blau überging. Das Potential ist demnach negativer als -89 m. V. Indigotrisulfonat, das einem Erhängten 36 Stunden p. m. in die Schenkelarterien injiziert wurde, war 12 Stunden später, ohne daß merkliche Fäulniserscheinungen aufgetreten waren, völlig entfärbt. Die gefäßführende oberflächliche Hautschicht blieb gefärbt. Das Potential der reduzierten Abschnitte ist negativer als -110 m. V. Kresyl-

violettchlorid und Brillantalizarinblau wurde von der Leiche eines Neugeborenen erst am 4. Tage bei bereits deutlich vorliegender Erweichung und Gasfäulnis farblos. Lediglich die oberflächliche Haut blieb gefärbt. Das Phenosafranin, in die Aorta eines Neugeborenen injiziert, wurde erst nach Verlauf 1 Woche, nachdem die Fäulnis bis zur starken Erweichung und Gasbildung fortgeschritten war, entfärbt. Die oberflächliche Haut blieb fleckigblau. Bei dieser stark fortgeschrittenen Fäulnis erreicht die Reduktionsstärke einen Wert, der negativer ist als -554 m. V.

Verrührt man innere Organe zu einem gleichmäßigen Brei, so werden zugesetzte Farbstoffe (gleiche Teile einer 0,001 molaren Lösung) von den einzelnen Organen mit etwa gleicher Geschwindigkeit reduziert. Die Untersuchung wurde bei einer Zimmertemperatur von $23-25^{\circ}$ unter möglichstem Luftsabschluß in festverschlossenen Reagensgläsern vorgenommen. Untersucht wurden Teile der Niere, der Milz, des Gehirns, der Skelett- und Herzmuskulatur eines vor 24 Stunden verstorbenen Mannes. Dichlorphenolindophenol wurde sofort (nach etwa 2—3 Minuten) farblos, Methylengrün und Toluylenblau nach etwa 5 Minuten. Kresylviolettchlorid und Methylenblau waren am Boden der Gefäße nach etwa 5 Minuten farblos. Nach etwa 10 Minuten waren sie völlig entfärbt. Toluidinblau wurde nach 15 Minuten, Azur I und Indogotrisulfonat nach etwa 30 Minuten, Gallophenin nach etwa 2 Stunden farblos. Der Gehirnbrei reduzierte ein wenig langsamer, Kresylviolettchlorid und Brillantalizarinblau waren erst nach etwa 12—18 Stunden völlig entfärbt. Der Inhalt der Gefäße war bereits von Fäulnisblasen durchsetzt. Das Gehirn entfärbte nach 24 Stunden. Phenosafranin wurde erst bei starker Fäulnisgasbildung im Laufe des 2. Tages farblos. Bei Luftzutritt trat die ursprüngliche Farbe wiederum in Erscheinung.

III.

Das Potential der menschlichen Haut.

Das Potential der gefäßführenden oberflächlichen Hautabschnitte bestimmt die Farbe der Totenflecke. Es ist für die Haltbarkeit und Bildung von Oxyhämoglobin und das Auftreten von reduziertem Hämoglobin maßgebend und bestimmt in gleicher Weise auch die Entstehung von Sulfhämoglobin und die Haltbarkeit des Methämoglobins.

Das Hämoglobin-Methämoglobin ist ein Redoxsystem, dessen Redoxstellung von verschiedenen Autoren mit abweichenden Methoden und Ergebnissen gemessen worden ist. Bei $p_{\text{H}} 7,0$ fand ich E_0 bei $+211$ m. V., also in einem Redoxbereich, der von den aufgeführten Farbstoffen dem Dichlorphenolindophenol am nächsten steht. Die Haltbarkeit des Methämoglobins in der Leiche — worauf ich bereits an anderer Stelle hingewiesen — ist von der Art seiner Entstehung abhängig. Ist das Met-

hämoglobin durch ein starkes Oxydationsmittel entstanden, zu denen u. a. die Chlorate, Permanganate, Chromate, Chinon u. a. zu rechnen sind, dann ist das System durch den abgespaltenen Sauerstoff und durch den potentialpositiven Methämoglobinbildner vor Reduktionseinflüssen weitgehend geschützt. Das System ist genügend beschwert. Es ist dementsprechend in der Leiche lange haltbar. Schwächere Oxydationsmittel, die ihrer chemischen Natur nach Reduktionsstufen darstellen, werden dagegen zunächst durch den Blutsauerstoff in Oxydationsprodukte überführt und werden erst hierdurch potentialpositiv genug, den Blutfarbstoff in Methämoglobin zu oxydieren. Der Hämoglobinsauerstoff wird für die Methämoglobinbildung verbraucht. Das System ist weder durch freien Sauerstoff noch durch ein genügend starkes Oxydationsmittel beschwert. Reduktionseinflüsse greifen sofort das Methämoglobinsystem an. Es ist bei diesen Substanzen, zu denen das Nitrobenzol, Dinitrophenol, Anilin, Pyrogallol, Resorzin, Amidophenol, Arsenwasserstoff u. a. gehören, nur von geringerer Haltbarkeit.

Sulfhämoglobin kann sich nur aus oxydiertem Blutfarbstoff bilden. An luftgeschützten Hautstellen, an denen der Blutfarbstoff durch das Gewebe reduziert ist, wird die grüne Farbe des Sulfhämoglobins selbst bei hochgradiger Gasfäulnis vermißt. Reduktionseinflüssen gegenüber ist das Sulfhämoglobin äußerst widerstandsfähig.

Die menschliche Leichenhaut ist im allgemeinen für Luft nur wenig durchgängig. Die normale Farbe der Totenflecke ist die des reduzierten Hämoglobins. Durch Feuchtigkeit wird die Oberhaut für den Luftsauerstoff leichter durchgängig. Das reduzierte Hämoglobin kann auf diese Weise wiederum reoxydiert werden. Die Geschwindigkeit, mit der das Gewebe den eingedrungenen Sauerstoff verbraucht, ist von der Temperatur abhängig. Bei gefrorenen oder kühl liegenden Leichen ist die Sauerstoffatmung der Haut gering. Die Sauerstoffzufuhr überwiegt den Sauerstoffverbrauch. Die Totenflecke färben sich hellrot. Bei Temperaturanstieg und Trockenheit der Haut tritt sehr bald wiederum die blauviolette Farbe des reduzierten Hämoglobins auf. Das Potential der gefäßführenden Hautabschnitte ist sonach von der Größe der Sauerstoffdiffusion und dem Sauerstoffverbrauch abhängig.

Über das bei Leichen auftretende Hautpotential orientieren folgende Versuche.

Die Leichen zweier reifer Neugeborenen (eineiige Zwillinge) erhielten etwa 6 Stunden p. m. in die Schenkel- und Armarterien je 10 ccm einer 0,005 molaren Lösung von Dichlorphenolindophenol ($E_0 = +217$ m. V.), Methylengrün ($E_0 = +120$ m. V.), Methylenblau ($E_0 = +11$ m. V.), Toluidinblau ($E_0 = -15$ m. V.), Indigotrisulfonat ($E_0 = -81$ m. V.), Kresylviolettchlorid ($E_0 = -166$ m. V.) und Brillantalizarinblau

($E_0 = -275$ m. V.) injiziert. Eine Extremität blieb zur Kontrolle farbstofffrei.

Die Injektion von Dichlorphenolindophenol färbte die Haut fleckig blau. Nach 5—10 Minuten zeigte sich ein Abblassen der Farbe. Aufliegende luftgeschützte Stellen und die Fingernägel waren nach etwa 20 Minuten völlig entfärbt. Feuchte Hautstellen blieben blaufleckig. Trockene und unbedeckte Partien entfärbten im Laufe 1 Stunde. Ähnliche Bilder zeigte das Methylengrün. Schon nach 10 Minuten waren die ehemals deutlich grün gefärbten Hautstellen sichtlich abgeblaßt. Nach 20 Minuten waren die aufliegenden Hautstellen völlig entfärbt. An den übrigen Stellen war die Haut nach 1 Stunde nur noch von leicht grün schimmernder Farbe. Nach 2 Stunden war die Haut kaum noch gefärbt.

Die mit Methylenblau injizierte Extremität zeigte nach etwa 20 Minuten eine beginnende Abblassung. Aufliegende Stellen und die Nägel waren nach etwa $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunde entfärbt. Nach 1 Stunde waren die übrigen Hautstellen noch in deutlichem Maße fleckig blau. Toluidinblau verhielt sich ganz ähnlich. Indigocarmin wurde an den aufliegenden Bezirken erst nach 24 Stunden entfärbt. Luftzugängliche Hautstellen blieben auch weiterhin gefärbt. Kresylviolettchlorid wurde an den luftgeschützten Abschnitten erst am 2. Tage farblos. Die Haut der übrigen Stellen blieb im wesentlichen violett. Das Brillantalizarinblau wurde an den aufliegenden Stellen erst am 4. Tage farblos. Die Weichteile waren bereits stark faulig erweicht. Die luftzugänglichen Stellen waren überhaupt nicht entfärbt. Mit beginnender Allgemeinfäulnis, die zu einer Erweichung und Abhebung der Oberhaut führte, trat bei sämtlichen Farbstoffen wiederum eine deutlich schmutzige Verfärbung der injizierten und luftzugänglichen Hautbereiche ein.

Diese Untersuchungen zeigen, in wie starkem Maße das Potential der oberflächlichen gefäßführenden Hautschicht von der Luftzufuhr und Sauerstoffdiffusion der Oberhaut abhängig ist. An aufliegenden und luftgeschützten Hautstellen und den Nägeln werden das Dichlorphenolindophenol und Methylenblau innerhalb von etwa 20 Minuten reduziert. Das Potential ist nach dieser Zeit negativer als +91 m. V. Methylenblau und Tolidinblau werden nach etwa $\frac{3}{4}$ Stunden entfärbt. Das Potential ist negativer als —44 m. V. Nach etwa 24 Stunden wird Indigotrisulfonat farblos. Das Potential ist negativer als —110 m. V. Kresylviolettchlorid wird nach etwa 2 Tagen und Brillantalizarinblau erst bei hochgradiger Allgemeinfäulnis am 4. Tage entfärbt. Die Reduktionsstärke ist nunmehr negativer als —304 m. V.

An der unbedeckten luftzugänglichen Haut geht die Reduktion der Farbstoffe langsamer vonstatten. Ein stark negatives Potential wird hier überhaupt nicht erreicht. Dichlorphenolindophenol wird nach etwa

1 Stunde entfärbt. Das Potential ist negativer als + 188 m. V. Methylen-grün entfärbt erst nach Verlauf von 1—2 Stunden, aber auch nach dieser Zeit wird der Farbstoff nicht völlig farblos. Das Potential liegt bei + 106 bis + 91 m. V. Methylenblau, Toluidinblau, Indigotrisulfonat, Kresylviolettchlorid und Brillantalizarinblau zeigen keine wesentliche Farbstoffschwächung.

Die durch Fäulnis erweichte Leichenhaut ist dagegen für den Luft-sauerstoff leicht durchgängig.

IV.

Der Reduktionsverlauf in unfixierten Schnittpräparaten.

Das Sauerstoffbedürfnis der einzelnen Körperteile ist offenbar sehr unterschiedlich. Eine Herzmuskelzelle hat einen größeren Stoffumsatz als ein ruhender Muskel, und dieser wohl wiederum einen höheren Sauerstoffverbrauch als eine inaktive, wenig mit Blut versorgte Bindegewebs- oder Knorpelzelle. Mit dem Tode werden sämtliche Zellen von ihrer Sauerstoffversorgung abgeschnitten. Zellen mit trägerem Stoffumsatz werden in ihrem Potential langsamer abfallen als Zellen, deren Sauerstoffverbrauch ein lebhafter ist. Gelänge es, in die einzelnen Zellen jeweils die gleichen Mengen eines reversiblen Farbstoffes einzuführen, dann würde der Farbstoff von ihnen, sofern die Zellwände einen Elektronenaustausch verhinderten oder zumindest stark verzögerten, verschieden schnell entfärbt werden. An überlebenden, von der Zirkulation abgeschnittenen oder abgestorbenen Zellen würde man auf diese Weise einen Einblick in die Größe ihres Stoffumsatzes und ihrer jeweiligen Potentialstellung gewinnen. Eine gleich intensive Zellfärbung zu erzielen, ist in Organschnitten jedoch nicht möglich. Die färberische Neigung der einzelnen Körperzellen ist durchaus verschieden. Je größer aber der Farbstoffgehalt, um so mehr ist das zu messende System beschwert und die Entfärbung verzögert.

Gefärbte Doppelmesserschnitte unfixierter Organe, die in Wasser auf einem Objektträger unter dem Deckglas sorgfältig eingebettet und zur Verhinderung einer Sauerstoffdiffusion in ausgekochtes Wasser gelegt wurden, entfärben zunächst in ihrem Zentrum oder an den dickeren Stellen des Präparats. Die Entfärbung betrifft ohne wesentlichen Unterschied sämtliche in diesem Bereich liegende Zellen. Gefrierschnitte unfixierten Materials, in Glycerin eingebettet, die einer besseren mikroskopischen Betrachtung zugänglich sind, werden ebenfalls zunächst in den zentralen Abschnitten farblos. Die Randstellen, denen der Sauerstoff der Einbettungsflüssigkeit zugänglich ist, werden erst zu einer späteren Zeit entfärbt. An den entfärbten Stellen sind sämtliche hier liegende Zellen farblos. Das Potential jeder einzelnen Körperzelle ist demnach von ihrer Umgebung abhängig. Die Zellmembranen

verhindern den Elektronenaustausch nicht. Ein isoliertes Zellpotential existiert im abgestorbenen Gewebe nicht.

Färbt man die Präparate mit Farbstoffen verschiedenen Potentials, dann erreicht man, sofern die Schnitte (durch Variation der Farbzeiten) gleich intensiv gefärbt sind, eine dem Potential des Farbstoffes entsprechende Entfärbung, dessen Ablauf von der Schnittdicke, der Farbintensität und der Temperatur abhängt. Frische Leberschnitte (20 μ) entfärben das Dichlorphenolindophenol bei 20° Zimmertemperatur bis auf einen schmalen Raum innerhalb von 24 Stunden. Methylengrün und Methylenblau sind in der gleichen Zeit geringer entfärbt. Ein Farbstoffgemisch aus Methylenblau und Neutralrot wird im Zentrum einfarbig rot. Das Potential ist an diesen Stellen negativer als — 18 m. V., aber positiver als — 300 m. V. Farbstoffe mittlerer Potentialstellung werden entsprechend langsamer, die stark negativen Redoxpotentiale des Brillantlizarinblaus, Neutralrots und Phenosafranins erst nach Verlauf mehrerer Tage bei bereits auftretender Fäulnisgasbildung in die farblose Leukobase überführt.

Welche Substanzen innerhalb der Zellen und Gewebe das Potential bestimmen und einer Oxydation zugeführt werden, läßt sich nicht sagen. Es sind vorzüglich Stoffe, die einer reversiblen Oxydation und Reduktion nicht zugänglich sind. Das Potential ist wie bei vielen organischen Substanzen ein nicht genauer definierbares Grenzpotential, das bei der Titration exakte Titrationskurven nicht ergibt. Die Produkte, die auftreten, sind Fäulnisprodukte mannigfaltigster Art.

Literaturverzeichnis.

- Clark, W. M., u. Mitarbeiter, Publ. Health Rep. **38**, 433, 666, 933 (1923); **38**, 381, 1669; **39**, 804 (1924); **40**, 649; Suppl., Nr 69 (1925); Suppl., Nr 71, 61, 48, 1131; Suppl., Nr 54 (1926). — Cohen, B., B. Chambers u. P. Reznikoff, J. of Physiol. **11**, 585 (1928). — Cohen, B., P. W. Preisler, Publ. Health Rep. Suppl. Nr 92 (1931). — Conaut, J. B., u. Mitarbeiter, J. of biol. Chem. **57**, 401 (1923); **63**, 595 (1925); **76**, 207, 223 (1928); **98**, 57 (1932). — Michaelis, T., Oxydations-Reduktionspotentiale. Berlin: Springer 1933. — Schmidt, O., Biochem. Z. **1938**, 210 — Verhandlungsbericht des I. internationalen Kongresses für gerichtliche und soziale Medizin. Bonn 1938. — Schultz, G., Farbstofftabellen **1**, 448ff (1931). — Warmser, B., Oxydations et Réductions. Paris 1930.