

- MOLLARET, P.: Über die äußersten Möglichkeiten der Wiederbelebung. Die Grenzen zwischen Leben und Tod. Münch. med. Wschr. **104**, 1539—1545 (1962).
- , I. BERTRAND et H. MOLLARET: Coma dépassé et nécroses nerveuses centrales massives. Rev. neurol. **101**, 116—139 (1959).
- , et M. GOULON: Le coma dépassé (mémoire préliminaire). Rev. neurol. **101**, 3—15 (1959).
- NEUHAUS, G.: Pathophysiologie und Klinik von Erkrankungen bei Patienten unter den Bedingungen der vita reducta. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. **69**, 16—39 (1963).
- POCHE, R.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie des Herzmuskels vom Siebenschläfer während des aktiven und lethargischen Zustandes. Z. Zellforsch. **50**, 332—360 (1959).
- Über den Winterschlaf. Dtsch. med. Wschr. **84**, 2018—2025 (1959).
- , u. H. G. OHM: Lichtmikroskopische, histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen des Herzmuskels vom Menschen nach induziertem Herzstillstand. Arch. Kreisf.-Forsch. **41**, 86—135 (1963).
- ROTTER, W.: Über die postischämische Insuffizienz überlebender Zellen und Organe, ihre Erholungszeit und die Wiederbelebungszeit nach Kreislaufunterbrechung. Thoraxchirurgie **6**, 107—124 (1958).
- SCHELDEGGER, S.: Histopathologie der Bewußtseinsstörungen. In: Bewußtseinsstörungen, hrsg. von H. STAUB u. H. THÖLEN, S. 38—58. Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- SCHLICHT, I.: Der Einfluß der Hypothermie auf die Leber bei experimenteller Tetrachlorkohlenstoffvergiftung. Klin. Wschr. **42**, 806—812 (1964).
- SCHOENMACKERS, J.: Koronararterien. Herzinfarkt. In: Das Herz des Menschen, hrsg. von W. BARGMANN u. W. DOERR, Bd. II, S. 735—792. Stuttgart: Georg Thieme 1963.

Prof. Dr. med. G. ADEBAHR
 Institut für gerichtliche und soziale Medizin der Universität
 6000 Frankfurt a. M., Kennedyallee 104

W. HOLCZABEK (Wien): Dünnschichtchromatographische Untersuchungen von Gewebsschnitten.

Vor einem Jahr haben wir in München über das Ergebnis der dünn-schichtchromatographischen Untersuchung von Lipidextrakten aus der Lunge berichtet [1]. Wir hatten festgestellt, daß in Fällen von Lungenfettembolie die Triglyceride *wesentlich vermehrt* waren. Wir erhielten durch densitometrische [2] und vor allem planimetrische Untersuchungen ein objektives Maß für die Vermehrung der Triglyceride. Dabei stellte sich heraus, daß in manchen Fällen zwar nicht die Gesamtmenge der extrahierten Lipide, stets aber die Menge der Triglyceride relativ vermehrt war, wenn sich histologisch eine Fettembolie nachweisen ließ. In Fällen hochgradiger Fettembolie betrug die Triglyceride bis zu 78% der Gesamtlipide. Ein so hoher Triglyceridgehalt war aber nur durch Einschwemmung der Triglyceride aus der Peripherie zu erklären [3], denn nur im Fett von Knochenmark und Unterhautzellgewebe finden sich so hohe Mengen von Triglyceriden.

In diesem Stadium unserer Untersuchungen gab BREITENECKER [7] 1963 die Anregung Gewebsschnitte direkt zu chromatographieren, da die chemische Untersuchung des Lungengewebes für praktische Zwecke sehr zeitraubend ist.

Die erste Schwierigkeit, die wir zu überwinden hatten, war, den Schnitt auf der Dünnschichtplatte zu befestigen: wir entblößten dazu am Startpunkt die Platte im Ausmaße einer halben Schnittgröße (8:4 mm — die Schnitte maßen etwa 8:8 mm) vom Kieselgel und legten die untere Hälfte des Schnittes auf die vom Kieselgel nicht bedeckte Glasplattenstelle und die obere auf die sich nach oben zu verdickende Kieselgelschichte. Wir hatten nämlich, der oberen Hälfte des Schnittes entsprechend, das Kieselgel nach unten zu allmählich verdünnend abgekratzt, so daß erst der obere Schnitttrand wieder die normale Kieselgelschichtdicke (250 μ) erreichte. Um sicher zu gehen, genügend „Material“ für die Chromatographie zur Verfügung zu haben, verwendeten wir in Formalin fixierte Gefrierschnitte steatotischer Lebern.

Wir stellten die Chromatogramme mittels der Sandwichtechnik her¹, da diese einen optimalen Sättigungszustand der „Kammer“ garantiert. Der mit Kieselgel beschichteten, den Schnitt tragenden Platte wird eine zweite durch einen schmalen dreiseitigen Pappendeckelrahmen getrennte Platte gegenübergestellt, die mit einer Celluloseschicht bedeckt ist. Der Pappendeckelrahmen schließt den Spalt zwischen den Platten oben und zu beiden Seiten ab; die Platten werden durch Klammern aneinandergedreht; die beiden linken Klammern sind an einem Ständer befestigt, dessen breiter Bodenteil das „Stehen“ der beiden Platten ermöglicht. Die Platten sollen nun in einen schmalen, wenige Zentimeter hohen Trog gestellt werden. Da aus diesem Trog das von uns verwendete Fließmittel sehr rasch verdunstete, stellten wir die Platten in eine große Trennkammer, in die wir das Fließmittel (Petroläther-Diäthyläther-Eisessig) eingossen.

Nach 20 bis 25 min Laufzeit erhielten wir bei einer Steighöhe von 16 cm (die vorher markiert worden war) unsere Chromatogramme, die wir durch Besprühen mit Ammoniummolybdat-Perchlorsäure und 20 min langes Einstellen in den Brutkasten bei 105 Grad sichtbar machten. Da das Aufbringen der Schnitte sehr mühsam war (es gelang uns nur durch zwei Filterpapierschablonen: mit einer Schablone, die eine Öffnung der Schnittgröße entsprechend aufwies, deckten wir die Kieselgelschichte ab, mit der anderen Schablone fingen wir den Schnitt aus der mit Wasser gefüllten Eisschale auf und legten ihn auf die vom Kieselgel entblößte Glasplatte), versuchten wir zuerst die Schnitte auf die Glasplatte aufzuziehen und sodann diese Platte mit Kieselgel G zu

¹ Ausrüstung der Fa. Camag, Zürich.

beschichten. Dies gelang uns mit Hilfe des von MACHATA selbst hergestellten Aufstreichapparates [4].

Wir erhielten Chromatogramme, auf denen Cholesterin, Fettsäure, Triglyceride und Cholesterinester deutlich sichtbar waren (Abb. 1). Darüber hinaus fanden sich noch zwischen dem Startpunkt und der Cholesterinfraktion die Diglyceridfraktion und am Startpunkt die Phospho-

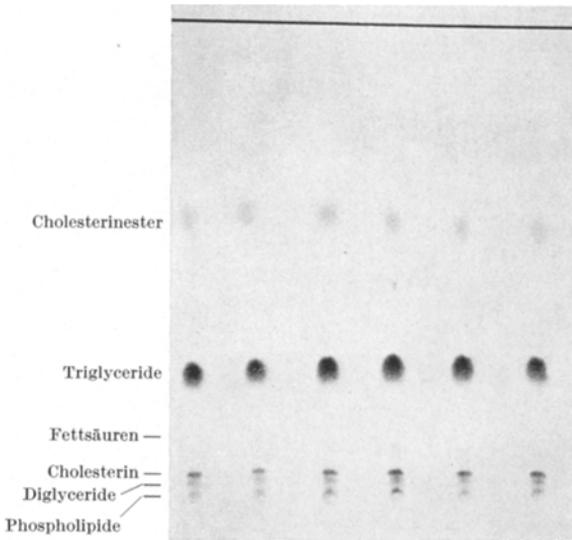


Abb. 1. Dünnschichtchromatogramme von Gefrierschnitten aus steatotischem Lebergewebe. Durchmesser des Schnittes: 4 mm. Dicke: Bei den ersten beiden 10 μ , bei den nächsten vier 15 μ . Fließmittel: Petroläther-Diäthyläther-Eisessig. Laufzeit: 20 min. Sprühmittel: Ammoniummolybdat-Perchlorsäure

lipide [5]. Es gelang uns auch, in Fällen von Lungenfettembolie die Triglyceridfraktion aus Lungenschnitten zur Darstellung zu bringen.

Zu diesem Zeitpunkt fanden wir beim Studium der Literatur die Arbeiten von CURRI u. Mitarb. [6], die auf Deckgläser aufgezogene Schnitte dünnschichtchromatographisch untersucht hatten. Wir haben diese Methode ebenfalls angewendet und feststellen können, daß man auch mit ihr ausgezeichnete Ergebnisse erzielt: Mit beiden Methoden kann der gleiche Schnitt vor und nach der Chromatographie histologisch untersucht und die Extraktion der Lipide nachgewiesen werden.

Da diese Untersuchungsmethode für die Zukunft sehr viel verspricht, haben wir uns erlaubt darüber zu berichten, denn

1. handelt es sich um eine neue histochemische Untersuchungsmethode, die wir
2. wie CURRI als „Histo-chromatographie“ bezeichnen möchten. Sie eignet sich

3. zur Untersuchung der Lipidzusammensetzung von Gewebsschnitten, was der Fettforschung, insbesondere der Arterioskleroseforschung dienlich sein kann und hat den besonderen Vorteil,

4. nicht nur die Art und Menge, sondern auch den Ort der Lipidablagerungen im Schnitt feststellen zu können. Nicht zuletzt sei

5. auch auf die Möglichkeit, andere Stoffe und Stoffgemische auf diese Art darzustellen, hingewiesen.

Literatur

- [1] HOLCZABEK, W.: Dünnschichtchromatographische Untersuchungen von Lipidextrakten aus der menschlichen Lunge unter besonderer Berücksichtigung der Fettembolie. Vortrag auf der 42. Tagg. der Dtsch. Ges. für gerichtliche Medizin, München, 7.—10. 10. 1963; erschienen in: Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **55**, 242—246 (1964).
- [2] — Todesursachen bei frischen Thoraxverletzungen. Thoraxchirurgie **12**, 89—93 (1964).
- [3] — Zur Frage der Entstehung der Lungenfettembolie auf Grund dünn-schichtchromatographischer Untersuchungen. Klin. Med. (Wien) (im Druck).
- [4] MACHATA, G.: Dünnschichtchromatographie in der Toxikologie. Mikrochim. Acta **1**, 79—86 (1960).
- [5] WOOD, P., K. IMAICHI, J. KNOWLES, G. MICHAELS, and L. KINSELL: The lipid composition of human plasma chylomikrons. J. Lipid Res. **2**, 225—231 (1964).
- [6] CURRI, S. B., M. RASO u. C. R. ROSSI: Die Anwendung der Dünnschichtchromatographie zum Nachweis von Fett und Lipoidsubstanzen in Gewebsschnitten. Histochemie **4**, 113—119 (1964).
- [7] BREITENECKER, L.: Persönliche Mitteilung.

Professor Dr. W. HOLCZABEK
Univ.-Inst. für gerichtliche Medizin
Wien IX, Sensengasse 2

HÄSSIG (Bern): Moderne serologische Methoden bei der gerichtlich-medizinischen Spurenuntersuchung. (Manuskript nicht eingegangen.)

U. HEIFER (Bonn): Zur Technik der Gc-Bestimmung.

HIRSCHFELDS Entdeckung der von ihm vorläufig als „gruppen-spezifische Komponenten“ bezeichneten alpha₂-Globulin-Fractionen hat der forensischen Serologie eine wertvolle Erhöhung der Vaterschaftsausschlußchance ermöglicht. Das inzwischen vielfach überprüfte Untersuchungsverfahren stellt jedoch sowohl in technischer als auch in diagnostischer Hinsicht hohe Anforderungen an den Serologen, die in der Empfindlichkeit und Kompliziertheit einer kombinierten Technik von Agargelelektrophorese und Immunopräzipitation begründet sind. Zu Beginn unserer Gc-Untersuchungen, aber auch bei der Erweiterung