

J. LINDNER (Hamburg): Vitale Reaktionen (Eröffnungsreferat).

Zuerst möchte ich Ihnen für die ehrenvolle Einladung zu diesem Referat danken.

Das Thema „Vitale Reaktionen“ ist das älteste und wichtigste Anliegen der Gerichtsmedizin.

In welchem Maße dieses Thema aber zugleich auch den Pathologen, z. T. auch Vertreter anderer medizinischer und naturwissenschaftlicher Fachdisziplinen angeht, ist wiederholt von den verschiedenen Fachvertretern aufgezeigt worden.

Als Pathologe, der lange Jahre gleichzeitig gerichtsmedizinisch gearbeitet hat, begrüße ich diesen Brückenschlag besonders. Die Tatsache, daß ich mit meiner Arbeitsgruppe seit über 16 Jahren physiologische und pathologische Zustände und Reaktionen des Bindegewebes bearbeite, soll und wird sich in meiner Gliederung und Bearbeitung des Themas zeigen.

Deswegen habe ich auch die in der ersten Tabelle dargestellte nach ORSOS (1935) modifizierte Zeiteinteilung benutzt. Die ursprüngliche Gliederung von ORSOS (1935) ist, hierin stimmen wohl alle WALCHER (1928, 1936) zu, für die praktische Arbeit zu detailliert, für die wissenschaftliche Bearbeitung des Themas aber notwendig.

Die in unserer Gliederung erfolgten Unterscheidungen von A und B, sowie von A und I haben natürlich mehr didaktische Bedeutung.

Von größtem Interesse und daher auch in diesem Referat vorrangig sind die lokalen vitalen Reaktionen, d. h. wörtlich definiert: die *örtlichen, intravital entstandenen Reaktionen auf intravital gesetzte Schäden*.

Diese Definition ist einfach und nicht an eine bestimmte Formulierung gebunden. Schwieriger ist dagegen die Abgrenzung der vitalen Reaktion gegen die folgenden Punkte bei der praktischen wie bei der wissenschaftlichen Arbeit. Das ist das *eigentliche* Problem: die sichere Unterscheidung von Reaktionen auf intravital gesetzte Schäden von Reaktionen auf postmortal gesetzte.

Da die einzelnen Zellen und Gewebe den Individualtod unterschiedlich lange überleben — in Abhängigkeit von inneren und äußeren Faktoren — können:

1. intravital entstandene Reaktionen nicht nur in einem verschieden langen Zeitraum noch postmortal nachgewiesen werden, sondern sich auch nach dem Individualtod eine gewisse Zeitlang weiterentwickeln — wiederum abhängig von inneren und äußeren Faktoren,

2. können in der Phase einer kürzer oder länger dauernden Agonie entstandene Reaktionen auf agonale Schäden *so* verlangsamt einsetzen und sich entwickeln, daß ihr Ausmaß dem von Reaktionen gleichen kann, die während des Todeseintrittes entstanden, unter Umständen, speziell am Bindegewebe, auch solchen Reaktionen, die durch Schäden aus-

Tabelle 1a—c. *Einteilung und Gliederung zum Thema „Vitale Reaktionen“, Erläuterungen s. Text*

Tabelle 1a. *Einteilung*

	A. Vitale Prozesse	Zusammengesetzte Vorgänge bei funktionierender Atmung, Kreislauf, ZNS
	B. Vitale Zeichen	auch an lebendem Material (Blutspritzer etc.)
	1. <i>Intravitale Reaktionen</i>	allgemeine lokale ↓
	2. <i>Agonale Reaktionen</i>	z. B. Hirntrauma Vita minima, Kachexie mit oder ohne funktionierendem Kreislauf, Atmung, ZNS
	3. <i>Reaktion während Todes- eintritt</i>	intermediäre Phase supravitale Phase frühe postmortale Phase
	4. <i>Reaktion unmittelbar nach Todeseintritt</i>	
5. <i>Spätere postmortale Phänomene</i>		
6. <i>Fäulnis-Phänomene</i>		

Tabelle 1 b

	A.	Blutungen (Fibr.!) Embolien (Thromben-, Fett- [Cave!], Luft-, Gewebe- und Zell-, Fremdstoff-E.) Allgemeine, besonders innere Anämie Einatmen und Verschlucken von Blut, Wasser, Fremdstoffen usw. (Alveol.) Vergiftungen (Allgemeinreaktion, Ausscheidung etc.)	
	B.	Blutspritzer, Blutschaum, Blutaspilation etc. s. oben	
	Primäre Reaktion	Gewebszerstörung: Nekrose, Nekrobiose, Degeneration, Retraktion, Kontraktion, Blut-infiltration Aufschlagspuren, Muskelblutung (direkt und indirekt: Ansatz) Blutgerinnung, Schorf, Thrombose	
	Sekundäre Reaktion: (katabol)	Entzündungs-Reaktion an	
2.	Grundsubstanz	Fasern	Zellen
	Schwellung	→	→
	Entmischung	Kontrakt./ Retrakt.	Aktivierung
	Acidose	Denaturie- rung	Transformierung
3.	Abbau	→	→
	Capillaren	Muskelfasern	Fettgewebe
	entsprechend	Blut- und Serum-Imb.	Emulgierung
(4.)	Randstellung	Kontraktion	
	Exsudation	Elong. Degen.	
	Emigration		

Tabelle 1 c

1. 2. 3. (4.)	Tertiäre Reaktion: 1. Entzündliche Zellproliferation mit Synthese von Grunds substanz und Fasern: (Wund)-Heilung <i>katabol-anabol:</i> 2. Weitere Resorption, Abbau und Organisation von Blutungen, Thromben, Embolien (auch Fett-, Luft- etc.) Blutabbau- und andere Pigmente Aspiration und Resorption (von Blut, Wasser: Lunge, Magen) (Zusammengesetzte Kreislaufreaktion, Digestion) Alveolarzellproliferation — Riesenzellen (Hypoxie) (Respiration — Hyperventilation — interstitielles Emphysem, Lungen-Ödem) Lymphknoten (Ery-Phag., Abbau, Pigm.)
--	--

gelöst wurden, welche sofort, also unmittelbar nach Todeseintritt, gesetzt wurden.

Die in der Einteilung (Tabelle 1) unter 1. bis 4. angeführten Reaktionen reichen also in die sog. intermediäre oder supravitale Phase (s. Pfeil), wodurch die gerichtsmedizinisch entscheidende Frage und Bestimmung des Zeitpunktes der Schädigung oder Verletzung in konkreten Fällen erheblich erschwert sein kann.

Der Hauptteil unserer Untersuchungen und des Referates gilt diesen grundlegenden Fragen.

Zuvor werde ich nur abrißartig die wichtigsten vitalen Reaktionen abhandeln, also ohne Anspruch auf Vollständigkeit.

Punkt 5 und 6 der in Tabelle 1 gezeigten Einteilung, also die späteren postmortalen Phänomene und die Fäulnisphänomene, beschäftigen uns hier nur am Rande und zur Abgrenzung.

Ad A: Die bekanntesten vitalen Prozesse als komplexe Vorgänge bei noch bestehender Funktion von Atmung, Kreislauf und Zentralnervensystem sind Blutungen und Embolien.

In der Praxis, bei der Notwendigkeit, ein vorläufiges Gutachten sofort nach Sektionsende abzufassen, hat die makroskopische Diagnose der Blutung als vitale Reaktion nach wie vor zentrale Bedeutung.

Daß die Blutung nicht die sicherste vitale Reaktion ist, weil auch postmortal Blutungen nach innen und außen entstehen können, ist ebenso bekannt wie das mögliche Mitwirken und daher notwendige Ausschließen von Hypostasen, die mikroskopische Untersuchung des Leukozyten- und Fibringehaltes, das Vorkommen traumatisch gelöster Bindegewebsfasern in Hämatomen [BAHLMANN (1939/40), LANDE et al. (1935) u. a.], die bekannte, doch kaum genutzte Empfehlung des Auswaschens usw.

Auch hier kann die Unterscheidung zwischen Punkt 1 und 4 unserer Einteilung, also zwischen den intravital und den unmittelbar nach Todeseintritt entstandenen

Reaktionen, auf Grund des Gerinnungsnachweises aus den bekannten Gründen schwierig sein. Denn einerseits kann die Blutgerinnung mit dem Ausfall mikroskopisch und färbereich nachweisbaren Fibrins in agonal entstandenen Blutungen fehlen, andererseits in bis zu 4—6 Std nach dem Tode entstandenen Blutungen noch eintreten, dann aber nie so ausgeprägt wie bei intravitalen Blutungen. Diese und weitere Einzelheiten sind unverändert gültig und werden daher nicht weiter erörtert, ebensowenig das mögliche Fehlen von Blutungen bei Verletzung größerer Arterien durch Einrollen der Stümpfe, bei Schock, Mehrfachverletzungen usw. Auch das Vorkommen und die Verwertbarkeit der allgemeinen, besonders der inneren Anämie als vitale Reaktion zur Diagnose der tödlichen Verblutung sind mit den bekannten Abweichungen und Einschränkungen unverändert gültig (ASCHOFF, 1936; HABERDA, 1898; LESSER, MASSHOFF, ORSOS, 1935; PONSOLD, 1937; PROKOP, 1960; WALCHER, 1935, 1936 u. a.).

Embolien von Thromben, besonders aber von Fett bei verschiedenen Formen äußerer Gewalteinwirkung, sind ebenso wie Embolien, von Luft, Gewebe, Zellen und Fremdstoffen, in der Regel sichere vitale Reaktionen bzw. vitale Prozesse. Denn zu ihrer Entstehung sind, wie unter A in der schematischen Einteilung angegeben ist, noch funktionierende Kreislaufverhältnisse erforderlich. Ausnahmen wie z. B. der fäulnisbedingte, also postmortale Transport größerer Fetttropfen sind histologisch davon abtrennbar (SCHULZ, 1896; LESSER, 1897, 1912; WESTENHOEFER, 1902; WALCHER, 1928, 1935; MERKEL, 1932; RITTER, 1933; FOERSTER, 1934; FRITZ, 1934; LANDE et al., 1935; ORSOS, 1935; PANNING, 1940; PROKOP, 1960 u. a.).

Sichere vitale Reaktionen sind Einatmen und Verschlucken von Blut, Wasser und Fremdstoffen, bei histologischem Nachweis in feinsten Bronchien und Alveolen. Das gleiche gilt für den Nachweis von Wasser im Duodenum beim Ertrinkungstod.

Zu Resorption, Abbau und Organisation der genannten Blutungen, Thromben, Embolien etc. im Rahmen dieser vitalen Prozesse, komme ich unter Berücksichtigung des eingangs aufgezeigten Problems der Abgrenzung bzw. des Überganges von intravitalen und frühen postmortalen Reaktionen bei ihrer chronologischen Abhandlung später. Dabei kann hier natürlich nicht auf spezielle Einzelbefunde eingegangen werden, z. B. im Rahmen der zeitlichen Bestimmung von Blutungen und ihrer vitalen Entstehung auf das früheste Auftreten und den erstmaligen Nachweis von Hämosiderin (HALLERMANN und ILLCHMANN-CHRIST, 1943 u. a.; WALCHER, 1935, 1936) wie auf entsprechende andere Details. Es soll im ersten Teil meines Referates nur eine generelle Übersicht zu dem in Tabelle 1 zusammengefaßten Fragenkomplex und heutigen Wissensstand der vitalen Reaktionen gegeben werden (s. auch unten).

In welchem Umfang zur Diagnose vitaler Reaktionen gegenüber der zunächst fast ausschließlichen Makroskopie heute moderne Methoden benutzt werden, zeigt gerade die gerichtsmedizinische Bearbeitung von Vergiftungsfällen. Hier werden neben der Erweiterung der klassischen Mikroskopie durch histochemische Verfahren vor allem toxikologische Aufarbeitungen mit physikalisch-chemischen, biochemischen und pharmakologischen Methoden zum sicheren Nachweis der intravital statt-

gehabten Aufnahme und Verteilung von Giften verwendet. Aber nach wie vor sind auch in der Routinehistologie eindeutige Gewebs- und Organschädigungen als sichere Zeichen vitaler Reaktionen verwertbar. Die bekannten Einzelheiten und Besonderheiten kann ich bei dieser Übersicht im ersten Teil meines Referates übergehen.

Das gilt auch für die unter Abschnitt B in dieser Einteilung beispielhaft aufgeführten sog. vitalen *Zeichen*, deren Nachweis auch an leblosem Material ihre Herkunft von intravital entstandenen Verletzungen und deren Folgen (z. B. Blutschaum an Kleidung, Gegenständen) beweisen.

Aus der bisherigen wie aus der weiteren Darstellung geht prinzipiell hervor, daß es nicht die Aufgabe meines Referates ist, das bisher zum Thema „Vitale Reaktionen“ vorliegende Material gleichsam enzyklopädisch zu erfassen. Das ist in den gerichtsmedizinischen Lehr- und Handbüchern erfolgt bzw. hinsichtlich der einzelnen Details in den zahlreichen einschlägigen Arbeiten enthalten. Auch eine Bestandsaufnahme der seit dem entsprechenden Kongreßreferat von WALCHER (1935) zum Thema „Vitale Reaktionen“ erschienenen Arbeiten sehe ich nicht als meine Aufgabe an. Ihre Einordnung in den damaligen von WALCHER (1935) bei der 24. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gerichtsmedizin in unübertreffbarer Sachkenntnis dargelegten Wissensstand würde zwar den deutlichen Fortschritt unserer Kenntnisse über die vitalen Reaktionen charakterisieren. Trotzdem wäre mein Referat in vielen Teilen eine Wiederholung des Referates von WALCHER. Die mir gestellte Aufgabe liegt vielmehr darin, nach einer generellen Übersicht über den heutigen Stand unseres Wissens über die vitalen Reaktionen, die Beiträge der modernen Bindegewebforschung zu diesem Thema aufzuzeigen. Daher fasse ich mich auch bei der weiteren Übersicht im ersten Teil meines Referates so kurz als möglich, unter Vermeidung weiterer Details und Literaturzitate, wofür ich die verehrte Versammlung von vornherein und generell um Entschuldigung bitten möchte.

Somit kommen wir nun zu dem Versuch einer *zeitlichen Ordnung* vitaler Reaktionen auf Schädigungen der verschiedensten Art.

Dabei bin ich gleichzeitig bemüht, unsere heutigen noch keineswegs ausreichenden Kenntnisse zu den eingangs akzentuiert hervorgehobenen Problemen darzulegen, also zur zeitweiligen Fortsetzung intravital begonnener Reaktionen in der Intermediärphase, ferner zur Frage einer Abgrenzung dieser agonal oder intermediär weiterlaufenden Vorgänge gegenüber erst in diesen Phasen entstandenen Reaktionen und gegenüber den sicher intravital begonnenen Reaktionen.

Ich habe auf unseren keineswegs vollständigen Übersichtsbildern diese Situation und Problematik vorläufig durch einen Pfeil charakterisiert, der

1. diese Übergangsmöglichkeiten mit quantitativer Abnahme in der Zeit anzeigt,
2. das Auftreten der angeführten Reaktionen und ihrer Einzelschritte — abnehmend in Abhängigkeit von der Zeit — markiert und
3. deutlich macht, daß heute im wesentlichen noch immer die alte Regel gilt: Die unter Punkt 1—4 in unserer Einteilung angeführten

Phasen und darin möglichen Reaktionen unterscheiden sich in vielen Fällen nur quantitativ voneinander, nicht qualitativ.

Da die Einteilung während des Referates in drei Teilen anhand von drei Dias gleichzeitig projiziert wurde, ist der Pfeil zur Überleitung im ersten Teil rechts, im zweiten und dritten Teil am linken Rand eingetragen. Die zuvor genannten, zumeist nur quantitativen Unterschiede des Vorkommens und der Stärke einzelner Reaktionen in den Phasen 1—4 sind durch die in dieser Reihenfolge abnehmende Breite des Pfeiles charakterisiert und durch die links davon gesetzten Zahlen symbolisch fixiert. Punkt 4, also die Phase unmittelbar nach Todeseintritt, ist zudem noch in Klammern gesetzt, um die klare Ausnahmesituation und häufige Strittigkeit des Auftretens, also Entstehens sog. vitaler Reaktionen in dieser Phase besonders hervorzuheben. Die entsprechenden Verhältnisse für die Phasen 1 bis 3 (1. intravitale allgemeine und lokale Reaktionen, 2. agonale Reaktionen, 3. Reaktionen während des Todeseintrittes) sind somit klar gekennzeichnet.

Nun zur weiteren Erläuterung:

In dem Abschnitt: „Primäre Reaktionen“ sind Befunde zusammengefaßt, welche sofort und unmittelbar durch die Gewalteinwirkung am Orte der Schädigung hervorgerufen werden und bisher als sichere vitale Reaktionen angesehen wurden, wie die Gewebszerstörungen mit folgender Nekrose, Nekrobiose oder Degeneration, deren Sicherung als intravitale Reaktion jedoch die bekannten Schwierigkeiten hat (auf deren Details ich deswegen nur noch kurz eingehe).

Das gilt auch für die Sicherung der spontanen, intravitalen Kontraktion, Retraktion und Blutinfiltration als sog. intravitale Sofortreaktionen.

Eindeutig intravital sind die sog. Aufschlagspuren (BALÁZS, 1933; WALCHER, 1935 u. a.), fast immer eindeutig die direkten und indirekten, am Ansatz lokalisierten Muskelblutungen.

Blutgerinnung, Schorf, Thrombosen werden in diesem Zusammenhang als mittelbare Folgen angegeben, ihre Sicherung als intravital entstanden, gerade an oberflächlichen wie an tiefen Hautverletzungen, kann aus dem zuvor Genannten und aus weiteren Gründen schwierig sein, wie die tägliche Praxis und ihr Niederschlag in dem umfangreichen Schrifttum zeigen.

In dem Abschnitt „Sekundäre Reaktion“ haben wir den *Entzündungsbeginn* zusammengefaßt. Hier wird — wie davor und im folgenden — deutlich, daß primär, sekundär und tertiär nicht streng wörtlich genommen werden dürfen.

Denn in dem Abschnitt „Primäre Reaktion“ sind nach historischen und praktischen Gepflogenheiten nicht nur intravitale Sofortreaktionen, sondern auch deren kausale und zeitliche Folgeschritte aufgeführt, die keineswegs nur intravital, sondern zum Teil auch in der frühen postmortalen Phase entstehen oder sich darin bei sicher intravitaler Entstehung eine Zeitlang verlangsamt weiter entwickeln können.

Auch die Abschnitte „Sekundäre und Tertiäre Reaktionen“ mit den katabolen und anabolen Entzündungsprozessen sind nicht im einzelnen absolut zeitlich voneinander trennbar, sondern überlagern sich, desgleichen der letzte Abschnitt.

Wichtig ist allein folgendes:

Seit jeher wird der eindeutige Nachweis von Entzündungsvorgängen am Ort einer Gewalteinwirkung als sicherster Beweis eines intravital gesetzten Schadens und einer intravitalen Reaktion angesehen. Das ist nach wie vor richtig! Aber wir wissen auch, daß nach intravitalen Verletzungen Entzündungsreaktionen bei entsprechenden Ursachen fehlen oder nur verzögert eintreten können.

Als Ursachen dafür werden allgemein genannt:

Alter, Kachexie, Blutverlust, Schock, Commotio, schwerste Verletzungen, Unterkühlung usw.

Andererseits wissen wir aus der modernen Bindegewebsgrundlagenforschung, daß das Bindegewebe fälschlicherweise als bradytroph bezeichnet wurde. Das Bindegewebe besitzt aber in vielen Leistungen Stoffwechselgrößen, die denen parenchymatöser Organe durchaus vergleichbar sind. Die verschiedenen Bindegewebe reagieren zwar unterschiedlich, im Prinzip aber äußerst rasch auf die verschiedensten Reize. Da diese rasch einsetzenden Reaktionen heute mit modernen morphologischen, biochemischen und radiochemischen Verfahren erfäßbar sind, ist die Frage berechtigt, ob Schäden, welche das Bindegewebe in der 2. bis 4. Phase (s. Tabelle 1a) treffen, nicht Reaktionen hervorrufen können, welche den intravitalen nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ entsprechen.

Wegen der Bedeutung dieser Frage habe ich mit meinen Mitarbeitern systematische *Untersuchungen zur Grundlagenforschung der lokalen vitalen Reaktion am Bindegewebe durchgeführt*, deren bisherige Ergebnisse ich nun vorstelle, mit entsprechenden Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zur Entzündung und Wundheilung vergleiche und in den Zusammenhang älterer und neuerer Untersuchungen der vitalen Reaktion einordne mit dem gleichzeitigen Versuch, einige der dabei offen gebliebenen Fragen, besonders die sog. Verletzungsmetachromasie von ORSOS (1935), zu klären.

Zunächst ist hier in Tabelle 1 b der Ablauf der ersten Entzündungsreaktionen an den drei Bestandteilen jedes Bindegewebes: Grundsubstanz, Fasern und Zellen, schematisch zusammengefaßt. Das schon klassische Phänomen der primären entzündlichen Schwellung betrifft alle Bestandteile des verletzten Bindegewebes, also alle Grundsubstanz-, Faser- und Zellstrukturen in gleicher Weise (in Tabelle 1 b daher mit durchgängigem Pfeil gekennzeichnet). Die Schwellung ist der morpho-

logische Ausdruck aller mit Flüssigkeitszunahme einhergehenden primär entzündlichen Veränderungen des normalen eukolloidalen Zustandes der makromolekularen Systeme der Intercellularsubstanz wie des Cytoplasmas der verschiedenen mesenchymalen Zellformen. Der Ablauf dieser und der folgenden Phasen an diesen Bindegewebsgrundstrukturen wird nun an Beispielen besprochen. Beachten Sie bitte, daß die Capillaren nicht nur die bekannten Phänomene von Prästase, Stase und Poststase, von Exsudation und Emigration zeigen, sondern, daß zuvor die Capillarwand aus strukturellen Gründen in die genannten primären Veränderungen der Intercellularsubstanz einbezogen wird.

Auch die Fettbinde- und Muskelgewebe sind prinzipiell von den gleichen, nun an Beispielen zu erläuternden, entzündlichen Primärvorgängen betroffen. Auf die unter der Überschrift „Muskel Fasern und Fettgewebe“ in Tabelle 1b angeführten Besonderheiten gehe ich getrennt ein. Hier ist bei der zeitlichen Fixierung bereits festzustellen, daß die Fettgewebsemulgierung, speziell im Bereich von Strangfurchen, besonders nach den Untersuchungen von BLUM (1938) (weiteres s. auch ESSER, 1933 u. a.; JANKOVICH et al., 1933) postmortal nicht entstehen soll, also als eine sichere intravitale Reaktion anzusehen ist.

Die tertiären anabolen Entzündungsreaktionen werden mit den katabolen Reaktionen gemeinsam besprochen, desgleichen, soweit erforderlich, die zeitlich folgenden, überwiegend intravital ablaufenden, kombinierten katabol-anabolen Prozesse von Resorption, Abbau und Organisation, mit Pigmentbildungen usw. (s. Tabelle 1c).

Wir kommen somit zum zweiten Teil des Referates:

Dabei wurden zunächst in einer (im Druck nicht enthaltenen) Abbildung schematisch die Bausteine des Bindegewebes zusammengefaßt, mit denen wir uns bei der gestellten Frage nach intra- oder postmortalen Bindegewebsreaktionen zu befassen haben.

Mit ³⁵S-Sulfat-Einbau-Untersuchungen sind Synthese und Stoffwechsel der sauren MPS und damit der Grundsubstanz zu bestimmen, wie ich zeigen werde (weitere methodische Einzelheiten dazu s. LINDNER u. Mitarb., 1962—1965), MPS-Bausteine der Grundsubstanz s. Tabelle 2.

In einem weiteren einführenden, im Druck nicht enthaltenen Bild wird eine schematische Übersicht über die Dimensionen gegeben, in welche die *Kollagenfaserstrukturen* mit den verschiedenen Verfahren auflösbar sind, angefangen von den bekannten lichtmikroskopischen Strukturen der Kollagen- und Retikulinfasern, über die bekannte elektronenmikroskopische Struktur der sog. Primärfibrille mit der typischen 640 Å-Periodik bis zu den Aminosäuren-Sequenzen mit den kollagenspezifischen Aminosäuren Hydroxyprolin, Prolin und Glycin mit der charakteristischen α -Helixstruktur mit der schraubenförmigen Verwindung der Polypeptidketten zu ihrer Tertiärstruktur. Diese ist für die physikochemischen und schließlich auch für die mechanischen Eigenschaften der Faserproteine verantwortlich.

Wir kommen nun zu den zuvor in Tabelle 1b gezeigten zur Zeit *am frühesten erfaßbaren Entzündungsreaktionen*.

Tabelle 2. Darstellung der bisher bekannten Mucopolysaccharide, im weiteren kurz MPS genannt, die als Proteinkomplexe zusammen mit anderen Eiweißen, Salzen und Wasser die sog. Bindegewebs-Grundsubstanz bilden. Die sauren MPS sind in der Regel zu gleichen Teilen aus Uronsäuren und Hexosaminen aufgebaut. Die sog. sulfatierten MPS enthalten je eine Sulfatgruppe am Hexosaminrest, wie im Falle der in der Haut hier besonders interessierenden Chondroitinschwefelsäure, bzw. zwei oder drei Sulfatgruppen bei den Di- und Tri-Heparinen der Mastzellen

Substanz	Die pro Disaccharideinheit enthaltenen		
	Aminozucker	Uronsäuren	Sulfatreste
Hyaluronsäure	Glucosamin (N-acetyl-)	Glucuronsäure	0
Chondroitin	Galactosamin (N-acetyl-)	Glucuronsäure	0
Chondroitinsulfat A	Galactosamin (N-acetyl-)	Glucuronsäure	1
Chondroitinsulfat B (β -Heparin)	Galactosamin (N-acetyl-)	Iduronsäure	1
Chondroitinsulfat C	Galactosamin (N-acetyl-)	Glucuronsäure	1
Mucoitin (Struktur ähnlich oder gleich Hyaluronsäure)	Glucosamin (N-acetyl-)	Glucuronsäure	0
Mucoitinschwefelsäure	Glucosamin (N-acetyl-)	Glucuronsäure	1
Heparin	Glucosamin (N-sulfat-)	Glucuronsäure	2 $\frac{1}{2}$
		Iduronsäure	
Heparinmonosulfat	Glucosamin	Glucuronsäure	1
		Iduronsäure	

Diese wesentliche Primärreaktion ist zunächst unabhängig von der Art der Verletzung oder Entzündungsursache, also in gleicher Weise durch physikalische wie durch chemische Reize hervorzurufen (ECKSTEIN et al., 1960; LINDNER et al., 1956—1965). Ursächlich sind nicht allein Anreicherungen saurer Stoffwechselprodukte, sondern Veränderungen der normalen Eukolloidalität des betroffenen Bindegewebes. Systematische histochemische, elektrometrische und colorimetrische Untersuchungen (besonders mit ECKSTEIN u. Mitarb., 1960) zeigten uns, daß eine entscheidende Ursache der primären und der unmittelbar folgenden sekundären Acidose eine *Freisetzung saurer MPS der Grundsubstanz* ist. Diese Zustandsänderung haben wir mit SCHALLOCK zusammen als *Entmischung* bezeichnet (1957). Dabei werden die normalerweise bestehenden MPS-Protein-Verbindungen zum Teil gelöst, die verschieden langen Polysaccharid- und Protein-Moleküle zerfallen, Depolymerisierungen, Denaturierungen, Esterabspaltungen, Muco- und Proteolysen folgen. Dieser Vorgang ist mit den zuvor genannten Methoden deswegen gut nachweisbar, weil durch diese Freisetzung der MPS aus ihrer Proteinbindung die sauren Zucker vermehrt für den Nachweis mit speziellen histochemischen Färbeverfahren verfügbar werden.

Es resultiert im Bereich des Elektrodeneinstiches nach 30 min die sog. *Zunahme der echten Metachromasie* sowie der Intensität entsprechender anderer histochemischer Methoden für saure MPS-Nachweise. Diese im Vortrag vorgewiesenen

Befunde bedeuten also zunächst nicht, daß eine quantitative Zunahme saurer MPS bereits zu diesem Zeitpunkt erfolgt ist, sondern nur die beschriebene Zustandsänderung der Grundsubstanz mit vermehrter Nachweisbarkeit der MPS durch Freisetzung ihrer anionischen Gruppen, die dadurch zur vermehrten Reaktion mit den entsprechenden Farbstoffen verfügbar sind. Inwieweit neben diesen katabolen Prozessen innerhalb der ersten 60 oder 120 min nach Verletzungsbeginn auch anabole Prozesse einsetzen, und zwar nicht nur, wie hinreichend bekannt, RNS- und DNS-Synthesen von Bindegewebszellen des Verletzungsfeldes, sondern auch echte MPS-Neusynthesen durch Fibroblasten, wird anhand unserer einschlägigen bisherigen Befunde später besprochen. Daß der zunächst beschriebene

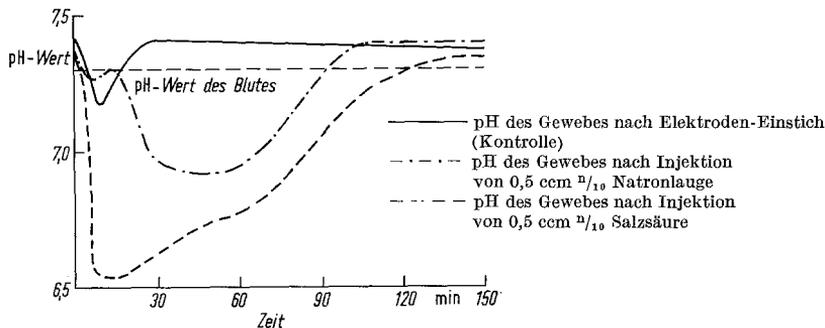


Abb. 1. Noch bevor morphologische Veränderungen feststellbar sind, tritt im verletzten Bindegewebsareal bereits in den ersten Minuten nach Reizsetzung eine primäre *Acidose* auf, die reizabhängig bis zu pH-Werten um 6,0 reichen kann. In Abb. 1 ist diese Acidose lediglich durch eine punktförmige Verletzung, nämlich durch den ElektrodenEinstich in die Rattenhaut hervorgerufen; Normalisierung nach 30 min. Bei Prüfung anderer Entzündungsursachen, wie in Abb. 1 als Beispiel dargestellt, durch Injektionen von 0,5 ml n/10 Natronlauge oder von 0,5 ml n/10 Salzsäure tritt eine chemische Gewebsverletzung mit länger andauernder Gewebsacidose auf

Beginn kataboler Grundsubstanzveränderungen und ihr weiterer Verlauf die Anhäufung von Glykolyseprodukten und damit die Acidose steigert, ist selbstverständlich. Die weitere Besprechung dieser Zusammenhänge anhand der in großer Zahl dazu vorliegenden neuen Befunde führt jedoch hier zu weit.

Wichtig ist nun die entscheidende Frage der Einordnung und Bewertung dieser primären Grundsubstanzreaktion als vitales Zeichen (innerhalb der in Tabelle 1a dargestellten Einteilung B 1—6). Dazu ist folgendes zu sagen: Diese *primäre Grundsubstanzreaktion* kann innerhalb von 30 min nach verschiedenen intravital gesetzten Schädigungen der Haut hervorgerufen und nachgewiesen werden. Sie ist, wenn auch verlangsamt, nach in der agonalen und prämortalen Phase gesetzten Verletzungen nachweisbar, unregelmäßig und gelegentlich auch durch Verletzungen in den ersten Stunden nach dem Individualtod hervorgerufen, also in der Intermediärphase, und zwar nicht nur im Tierexperiment, sondern auch beim Menschen! Unsere eingehenden Untersuchungen zu dieser Frage ergaben jedoch:

1. Die Intensität der primären Grundsubstanzreaktion und ihres Nachweises in den anfangs gezeigten vier Phasen (s. Tabelle 1a) sind

bei Tier und Mensch so verschieden — in Abhängigkeit von Verletzungsursachen sowie von individuellen und lokalen Faktoren — daß dieser Nachweis zur Routinebenutzung in der gerichtsmedizinischen Praxis *nicht* empfohlen werden kann.

2. Wie angegeben, ist der positive Nachweis der primären Grundsubstanzreaktion kein sicherer Beweis einer vitalen Reaktion!

An dieser Stelle ist auf die sog. *Verletzungsmetachromasie* von ORSOS (1935) einzugehen, die wir ebenfalls systematisch geprüft haben.

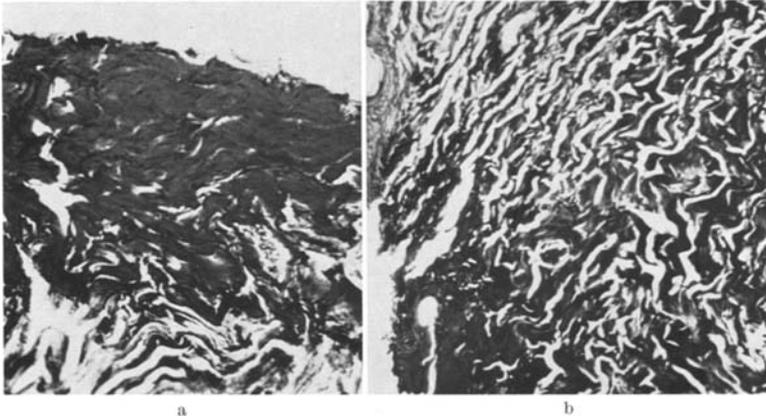


Abb. 2a. Beispiel einer Hautschnittwunde der Ratte, Paraffinschnitt, Mallory-Färbung, Darstellung der sog. Verletzungs-„Metachromasie“ mit Rotfärbung der oberflächlichen, stärker traumatisch geschädigten Cutisanteile, unregelmäßige Blau- und Rotfärbung der unmittelbar angrenzenden Kollagenfaserbündel bis zur gleichmäßigen normalen Blaudarstellung der tieferen Cutisanteile

Abb. 2b. Beispiel für die sog. Vertrocknungs-„Metachromasie“, welche durch Wässern nicht regelmäßig reversibel ist [betrifft Cutis und Epidermis (am linken Bildrand) der Rattenhaut, Paraffinschnitt, Mallory-Färbung; s. dazu auch die folgenden Textpunkte, besonders Punkt 3]

ORSOS (1935) verwendete die Mallory-Färbung und sah dabei eine Änderung der normalerweise blauen Anfärbung der Kollagenfasern. Sie färbten sich im Bereich der verschiedensten mechanischen, chemischen und thermischen Verletzungen rot an. Diesen Farbwechsel bezeichnete ORSOS (1935) als „Verletzungsmetachromasie“. Er wies nach, daß diese Farbqualitätsänderung keine sichere intravitale Reaktion ist, sondern auch postmortal entstehen kann. ORSOS (1935) unterschied diese sog. Verletzungsmetachromasie von der *Vertrocknungsmetachromasie*, die durch Eintrocknen entsteht, nach ORSOS (1935) aber sicher durch längeres Wässern reversibel sein soll und somit von der sog. Verletzungsmetachromasie unterschieden werden kann.

Unsere Untersuchungen zu diesem Problem der sog. Verletzungs-„Metachromasie“ von ORSOS (1935) sind wie folgt zusammenzufassen:

1. Wir bestätigen, daß bei Mallory-Färbungen im Bereich von Verletzungen der gleiche Farbumschlag wie im Bereich von Vertrocknungen eintreten kann.

2. Beide von ORSOS (1935) genannten Ursachen dieses Farbumschlages können sich überlagern und *nicht* in der angegebenen Weise, nämlich durch Wässern, sicher gegeneinander unterschieden werden.

3. Das gilt auch für gleiche Farbumschläge an Epithel-, Muskel-, Fett- und Lymphgeweben, an denen ORSOS (1926, 1935) gleiche Unterscheidbarkeiten angab (s. dazu auch BLUM, 1938).

4. Es handelt sich dabei um keine echte Metachromasie, sondern um eine Konkurrenzfärbung, wobei durch unterschiedliche Verände-

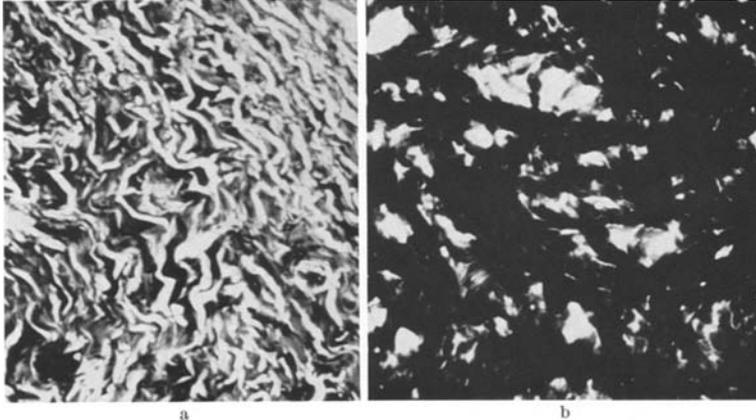


Abb. 3 a u. b. Beispiele für die Abhängigkeit dieser Konkurrenzfärbung der Kollagenfasern durch Anilinblau bzw. durch Säurefuchsin von den Einzelschritten der histologischen Technik (z. B. Fixierung, Denaturierungsgrad, Wassergehalt bzw. unterschiedlicher Wasserentzug, Schnittdicke usw., wobei die als Beispiel genannten einzelnen Faktoren wiederum wechselseitig voneinander abhängen). a Wechselseitige Blau- und Rotanfärbung durch unterschiedlichen Wassergehalt, durch Wässern zum Teil aufhebbar bzw. reversibel. b Beispiel für die Abhängigkeit des Ausfalles dieser Konkurrenzfärbung von der Schnittdicke mit Übergang der Blaufärbung in Rotfärbung der Kollagenfasern von den oberflächlichen zu den tiefen Schichtschichten (Paraffinschnitte nach Fixierung in eiskaltem, neutralem, gepuffertem Formalin, Rattencutis; gleiche Befunde bei Zenker- oder Helly-Fixierung)

rungen des Gewebes, im wesentlichen durch verschiedenen Wasserentzug und Denaturierungsgrad, anstelle der Blaufärbung mit Anilinblau die Rotfärbung mit Säurefuchsin tritt.

Über das *Wesen der sog. echten Metachromasie*: Zustandekommen, Voraussetzungen, physikalisch-chemische Details einschließlich der auch hier bestehenden Abhängigkeiten von der Schnitt- und damit von der Schichtdicke sowie vom Wassergehalt (der zur Orientierung und Aggregation und damit zur Erreichung einer höheren Ordnungszahl der Farbstoffmolekel erforderlich ist), Abhängigkeiten von der benutzten Wasserstoffionenkonzentration, von Salzkonzentrationen, Temperatur etc., sowie weitere Details zur echten Metachromasie s. die einschlägigen histochemischen Lehr- und Handbücher sowie LINDNER, FREYTAG u. Mitarb. (1957—1965).

5. Säurefuchsin gilt seit UNNA als elektiver Farbstoff für Kollagen, unabhängig vom Säuregrad seiner Lösung, weshalb Säurefuchsin auch in der van Gieson-Färbung mit sicherem Erfolg verwendet wird.

6. Anilinblau gehört zu den metachromatischen Farbstoffen wie Toluidinblau u. a., ergibt aber an Kollagen in der Mallory-Färbung *keine* Metachromasie.

7. Die echte Gewebismetachromasie ist eine reversible Verschiebung im Spektrum eines organischen Farbstoffes, die durch eine bestimmte Anordnung der Farbstoffmolekel an negativ geladenen Makromolekülen im Gewebe, in erster Linie an anionischen Polyelektrolyten, zustande kommt. Dazu gehören Kollagen-, Serum- und Protoplasmaeiweiße nicht!

8. Die zuvor von uns im Vortrag gezeigte Metachromasie im verletzten Hautareal mit Toluidinblau kommt dagegen durch die bei der Entmischung freigesetzten sulfatierten MPS zustande, welche im Gegensatz zu Kollagen und anderen Eiweißen die unbedingte Voraussetzung für das Auftreten einer echten Metachromasie bzw. der ihr zugrunde liegenden Polymerisierung der Farbstoffmolekel erfüllen, nämlich die erhebliche negative Ladungsdichte der Oberfläche des Metachromasie-erzeugenden Kolloidanions.

9. Auch die am Nervengewebe von ORSOS (1935) gezeigten Farbumschläge sind keine echte Metachromasie und kommen, wie ORSOS (1935) selbst angab, durch intravital wie postmortal entstehende Eiweißdenaturierungen und -adsorptionen zustande.

Die von ORSOS (1935) bei der 24. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gerichtsmedizin 1935 veröffentlichten Originalbildern wurde als Farbdia-Belege in meinem Referat demonstriert und sind in diesem Druck nicht enthalten (Nucleus olivaris-Coagulation nach Laugenvergiftung bei einem 2jährigen Knaben bzw. nach Säurevergiftung bei einem 37jährigen Mann, sowie Interspinalganglion eines 16jährigen nach Kohlenmonoxydvergiftung mit entsprechenden Farbumschlägen bzw. Farbwertänderungen und Konkurrenzanfärbungen am Nervengewebe).

10. ORSOS (1935) nahm jedoch verallgemeinernd und fälschlicherweise an, daß eine *Verschiebung des Albumin-Globulingehaltes* zugunsten der Globuline postmortal in den Mallory-rot-gefärbten Zellen und Geweben stattfindet und er sah in dieser als Coagulations- oder Gerinnungsvorgang bezeichneten Reaktion das allgemeine, färberisch in allen Zellen und Geweben erfaßbare „*Prinzip des biologischen Todes*“.

ORSOS (1935) hat sicher recht in seinen allgemein gehaltenen Feststellungen über die Konkurrenz möglicher intravitaler Schädigungen der Proteinstruktur des Ganglienzellcytoplasma erstens mit den in der Intermediärphase (also postmortal) einsetzenden Veränderungen derselben sowie zweitens mit den Veränderungen der makromolekularen Zell- und Gewebsstrukturen, welche durch die zur Benutzung kommenden histologischen Fixierungsmittel entstehen. Letztere werden heute (s. auch ZEIGER u. a., auch sein Schüler WARTENBERG im VIII. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Histochemie, LINDNER: Suppl.-Bd. V ad Acta Histochemica) in Proteincoagulatoren und Lipoidstabilatoren eingeteilt. Erstere führen zur sekundären Entquellung der primär durch Hydratation markierten Strukturen und über weitere, im einzelnen noch keineswegs ausreichend aufgeklärte Einzelschritte (mit Umladung aktiver Gruppen etc.) über die Denaturierung zur sog. Coagulation. Die dabei entstehende Verklumpung der Elementar-

teilchen mit Bildung der im histologischen Präparat dann sichtbaren Äquivalentbilder geht über die Zerstörung der Tertiärstruktur der Proteine. Diese ist bei den einzelnen Zelleiweißen verschieden und bestimmt den Ablauf des Denaturierungs-, „Coagulations“- und Fixierungsvorganges demnach unterschiedlich. Da die cellulären Substrukturen nicht nur Proteine, sondern neben anderen Makromolekülen reichlich Lipide enthalten (und dies besonders im Nervengewebe), ist die Wirkung der zweiten Hauptgruppe der Fixierungsmittel, also der Lipidstabilisatoren, entsprechend zu berücksichtigen. Das ist auch bei der Auswahl der Fixierungsmittel für Nervengewebs-Fixierungen der Fall. Die verschiedenen Fixierungsgemische wirken zumeist auf beide Hauptbestandteile der Zellstrukturen ein. Ihrem Namen entsprechend sollen die Lipidstabilisatoren, zu denen auch das übliche Formaldehyd gehört, die Lipidmembranen der cellulären Substrukturen mehr oder weniger erhalten, z. T. auch durch Vernetzungen, Brückenbildungen, speziell zwischen den aktiven Gruppen der Peptide, wodurch die bekannte „Härtung“ des Materials eintritt. Die verschiedenen Vorgänge überlagern und kombinieren sich in einer heute noch nicht überschaubaren Weise bei den verschiedenen Fixierungen und sind natürlich abhängig von der nativen Ausgangssituation der Zell- und Gewebstrukturen, ihrer chemischen Zusammensetzung usw.

Das wäre allein schon zu dem von ORSOS (1935) angeschnittenen Fixierungsproblem aus heutiger Sicht zu sagen.

Wie zuvor bereits festgestellt, sind aber die jeweils intravital entstandenen und die in der Intermediärphase (in Abhängigkeit von Zeitdauer, Temperatur etc.) entstehenden Veränderungen der makromolekularen Zell- und Gewebstrukturen auch heute noch zu wenig bekannt, als daß ihre Definition und Abgrenzung gegeneinander ausreichend erfolgen könnte. Es ist demnach noch keineswegs möglich, etwa durch eine in ihren Bedingungen (wie gezeigt) selbst noch nicht einmal ausreichend abgeklärte histologische Anfärbung, die für den biologischen Zell- und Gewebstod charakteristischen Veränderungen zu erfassen.

Wie unter Punkt 10 unserer zusammenfassenden Stellungnahme (aufgrund der eigenen Untersuchungen) zu den diesbezüglichen eindrucksvollen Bemühungen von ORSOS (1935) ferner angegeben, hat dieser Autor dabei (wie z. T. auch andere) auf die Frage intravitaler und postmortaler Eintritte von Serumeiweißen in Zellen und Gewebe abgehoben. Auch darüber besteht leider noch heute wesentlich weniger exaktes Wissen als notwendig ist. Auch moderne morphologische Verfahren, wie die *Histoautoradiographie* nach Verwendung markierter Substanzen einschließlich ihrer *elektronenmikroskopischen Auswertung* sowie die *Immunhistologie*, haben bisher keine entscheidende Lösung dieser wesentlichen Fragen erbracht. Die Ursache dafür liegt darin, daß es mit diesen Methoden bisher noch nicht gelang, in der Größenordnung histologischer Schnitte — zur gleichzeitigen histotopologischen Lokalisation — exakte qualitative und quantitative Analysen der verschiedenen Serumeiweiße zu gewinnen. Das aber ist notwendig und zugleich das Grundproblem beim Studium intravital wie postmortal entstandener Serumeiweiß-eintritte in Zellen und Gewebe.

Wir haben derartige Untersuchungen zuerst mit HÖLZER (1962), dann mit BECKER und weiteren Mitarbeitern durchgeführt (1964/65). Zunächst wandten wir uns dem quantitativen Ausbau der bisherigen immunchemischen Verfahren durch HEIDELBERGER zu und benutzten die bereits von verschiedenen Autoren angewendete Methode *quantitativer Trübungsmessungen von Antigen-Antikörper-Reaktionen* — speziell nach den Angaben von SCHULTZE und SCHWICK unter Verwendung der

entsprechenden Kaninchenantihumanseren von Behring. Wir bevorzugten also das spektralphotometrische Verfahren vor der Methode quantitativer Immunpräzipitatbestimmungen nach HEIDELBERGER.

In der letzten Zeit haben wir uns weiteren Möglichkeiten des Serum-eiweißnachweises besonders im Bindegewebe zugewandt und bevorzugten dabei das bekannte und einfache *Ringtest-Verdünnungsverfahren*.

Das Vorgehen zur Aufarbeitung des Gewebes ist das gleiche wie in Abb. 4 angegeben und zuvor beschrieben (weitere Einzelheiten s. spezielle Mitteilungen).

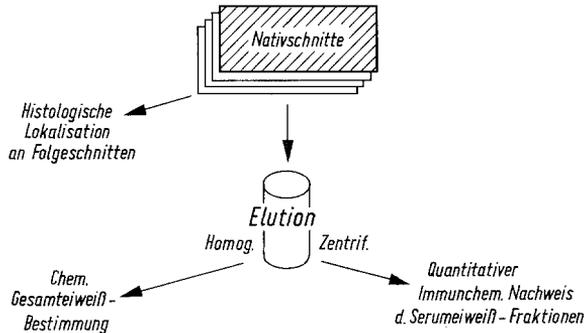


Abb. 4. Schematische Darstellung der Durchföhrung dieser qualitativen und quantitativen immunologischen Serumeiweißbestimmung durch Trübungsmessungen von Antigen-Antikörperpräzipitaten in der Größenordnung histologischer Schnitte (native Kryostatschnitte): Gewinnung nativer Gewebsschnitte an Kryostaten, histologische Lokalisation an Folgeschnitten, Homogenisierung der zu prüfenden Gewebsschnitte im vorgeschriebenen Puffer-Salz-Gemisch, Eluierung in einer Schüttelapparatur im Kälteraum, hochtouriges Zentrifugieren, Gesamteiweißbestimmung am Überstand und immunochemischer Nachweis der in den Gewebsschnitten enthaltenen löslichen Plasmaeiweißfraktionen im Eluat. Einzelheiten der Methode und der damit gewonnenen Ergebnisse sind von uns mit HÖLZER (1962) und BECKER (1964/65) mitgeteilt

Es wird dann in einer Verdünnungsreihe — mit jeweils doppelter Verdünnung der gewonnenen Eluatproben in entsprechendem engen Teströhrchen die Antigenlösung über das jeweilige Antihumanserum geschichtet. Die Ringtesttiter-Befunde werden mit dem Gesamteiweißgehalt der jeweiligen Proben verglichen. Dabei ergab sich eine klare Relation zwischen dem Albumin- und dem Gesamtprotein-gehalt der Eluate, wodurch es möglich wurde, bereits aufgrund der gesamten Proteinbestimmung den Umfang der notwendigen Ringtest-Verdünnungsreihen in etwa abzuschätzen.

Beide Methoden erfüllen die vorgenannte Forderung, qualitative und quantitative Serumeiweißbestimmungen an möglichst kleinem Ausgangsmaterial durchzuführen, am besten in der Größenordnung histologischer Schnitte zur entsprechenden Lokalisation und Unterscheidung der Befunde an entsprechenden Folgeschnitten für die mikroskopische Untersuchung.

Schließlich ist noch die dritte von uns jedoch noch nicht ausreichend standardisierte Möglichkeit einer Durchföhrung dieser Untersuchungen mit Hilfe der sog. *direkten Schnitt-Immunoelktrophorese* zu nennen, also die Anwendung unserer eigenen direkten Gewebsschnittmethode (LINDNER, 1956) in der Immunoelktrophorese (Trennung und Bestimmung der in einem nativen Gewebsschnitt vorhandenen Serumeiweiße).

Unsere bisherigen Untersuchungen sprechen dafür, daß postmortal eine Zunahme der Albumine gegenüber den Globulinen in den verschiedenen Geweben

erfolgt. Wir haben diese Befunde in verschiedenen Zeitabständen nach der Amputation an Haut und Gefäßen amputierter Beine sowie in steigenden Zeitabständen nach dem Tode an entsprechenden Geweben von Leichen erhoben. Unsere bisherigen Ergebnisse widersprechen also der Annahme von ORSOS (1935), daß postmortal eine Verschiebung des Albumin-Globulinverhältnisses zugunsten der Globuline stattfindet. [Die Hypothese von ORSOS (1935), daß dieser von ihm angenommene Vorgang für die von ihm beschriebene sog. Metachromasie verantwortlich sei, wurde oben bereits widerlegt.]

11. Nach unseren bisherigen Untersuchungen gelten die gleichen, eben im einzelnen zu den zuvor genannten Punkten gemachten Einwände und Feststellungen für die entsprechenden Interpretationen der Befunde an der Skelettmuskulatur durch ORSOS (1935).

Dazu wurden im Referat Farbdiaubeispiele der Originalabbildungen von ORSOS (1935) den Farbdiaabbildungen eigener Untersuchungen gegenübergestellt. Im Referatdruck entfallen die Wiedergaben dieser Befunde, die von verschiedenen intravitalen, agonalen und postmortalen Vorgängen ebenso abhängen können wie von Artefakten der histologischen Technik (weitere Details dazu s. oben, z.B. der Haut).

12. Damit bestätigen wir ORSOS (1935), daß die von ihm gezeigten Befunde intravital wie postmortal entstehen können, einschließlich der von ihm wie von anderen Autoren beschriebenen Zenkerschen wachstartigen Degeneration, des Querstreifungsverlustes, der Dickenänderung und Aufsplitterung von Muskelfasern etc.

13. Wir bestätigen ORSOS (1935) schließlich wie andere Autoren, daß allein die Invagination von Muskelfasern eine sichere intravitale Reaktion auf verschiedene Muskeltraumen (nicht nur unter der Strangfurche intravital Erhängter) darstellt.

Von den Muskelfasern kommen wir zu den *Kollagenfasern* und damit zurück zu den entzündlichen Frühreaktionen (s. Tabelle 1 b):

An den zuerst beschriebenen primären katabolen Prozessen der Grundsubstanz (sog. Entmischung) ist auch die Kittsubstanz zwischen den Untereinheiten der Bindegewebsfasern, speziell der Kollagenfasern, beteiligt.

Anhand von entsprechenden Modelluntersuchungen an Rattenschwanzsehnen werden die weiteren Folgen dieser Beteiligung der interfibrillären Kittsubstanz an den primären Entmischungsvorgängen der Grundsubstanz demonstriert (anhand einer Reihe polarisationsmikroskopischer Farbdias, die im Druck nicht enthalten sind).

Aus diesen eingehenden Untersuchungen ergibt sich, daß bereits eine kurzfristige Inkubation von Kollagenfasern in Aqua bidest. zu einer enormen Aufquellung der Fasern durch die sofort einsetzende Wasseraufnahme führt, wie aus dem Vergleich gegenüber der nicht inkubierten Kontrollfaser im polarisationsmikroskopischen Bild hervorgeht.

Bemerkenswert und wesentlich ist nun, daß diese Aufquellung durch Inkubation der Kollagenfasern in eine Chondroitinsulfatlösung wesentlich stärker ist. Das Ausmaß entspricht dem, welches wir bei der bekannten Inkubation von Kollagenfasern in anorganische Säuren gleicher Wasserstoffionenkonzentration erhalten. Dieser Befund ist deswegen wichtig, weil, wie oben erwähnt, im Rahmen

der primären Grundsubstanzentmischung die organischen Mucopolysaccharidsäuren aus ihren Proteinbindungen gelöst vermehrt frei vorliegen und deshalb mit den anderen niedermolekularen, im Rahmen der primären und sekundären Acidose freiwerdenden organischen Säuren in der Lage sind, in vivo bzw. intravital wie in der Intermediärphase zu den gleichen Kollagenfaserveränderungen zu führen, wie sie am Modell erzeugt wurden.

In beiden Fällen wird der charakteristische, spiralförmige, kabelstrukturartige Aufbau der größeren Kollagenfasereinheiten (s. oben) während des Quellungs Vorganges besonders deutlich. Bei weiterer Fortsetzung dieses Prozesses kommt es zur zunehmenden Freisetzung der interfibrillären Kittsubstanz mit der Möglichkeit eines Nachweises derselben durch metachromatische und andere geeignete histochemische Farbstoffe. Diese sog. Entstabilisierung der Kollagenfasern führt intravital wie in der Intermediärphase, also postmortal, zur sog. Demaskierung der Kollagenfasern und damit zum Auftreten von Degenerationsprodukten und zur Denaturierung des nativen Kollagen. Damit aber ist der Weg zum Abbau der Kollagenfasern gebahnt:

Denn wie wir zusammen mit GRIES (1960—1963) durch systematische Untersuchungen zeigen konnten, findet der *Kollagenabbau* bei Mensch und Säugetier wegen des Fehlens einer spezifischen Kollagenase unter physiologischen und speziell unter pathologischen Bedingungen als sog. Zweischnittmechanismus statt:

1. Denaturierung des nativen Kollagen und
2. Abbau des denaturierten Kollagen durch die ubiquitär vorhandenen Proteasen (wie Trypsin, Chymotrypsin, Fibrinolytin, Kathepsin etc.).

Die eben geschilderten Prozesse laufen nach allen bisher vorliegenden Kenntnissen, speziell nach den eigenen Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe, nach intravitalem Auslösen auch in der Intermediärphase verlangsam und über eine noch nicht genau abgrenzbare Zeitspanne weiter (die im wesentlichen von den üblichen Bedingungen, wie Temperatur, Ausgangslage etc. abhängig ist). Eine Reihe der geschilderten Vorgänge kann aber auch erst in der Intermediärphase beginnen. Das gilt nicht nur für das gezeigte Grundschema der Quellungs Vorgänge der Kollagenfasern, die schließlich zu beliebiger Zeit nach der Entnahme, auch an getrockneten Kollagenfasern beobachtet wurden und festzustellen sind, sondern auch für den vorgenannten zweiten Schritt des unspezifischen proteolytischen Abbaues. Hier sind praktisch alle Kenntnisse der biochemischen Grundlagenforschung über die Voraussetzungen für die Fortdauer von Enzymwirkungen an Zell-, Gewebs- und Organbestandteilen nach ihrer Entnahme aus dem Körper einschlägig. Dazu kann ebensowenig wie auf die einschlägigen Befunde zum speziellen hier genannten Wirkungsmechanismus detaillierter eingegangen werden. Es wäre Aufgabe eines speziellen Referates, die große Zahl der aus der biochemischen Grundlagenforschung für den Gerichtsmediziner einschlägigen Daten zu sichten, zu bewerten und zusammenzutragen, angefangen von den alltäglichen Erfahrungen aus der Routearbeit

über die Veränderungen des Sauerstoffverbrauches überlebenden Gewebes bis zu modernen Befunden der agonalen und postmortalen Fermentaktivierung, Substratverarmung etc. Eine Fülle von Einzeldaten aus den biochemischen Labors bei der üblichen täglichen Arbeit mit Zellen, Geweben und Organen in der Intermediärphase warten noch auf ihre spezielle Auswertung für gerichtsmedizinische Belange und könnten, wie später von mir nur an einem Beispiel, nämlich der ^{35}S -Sulfat-Inkorporation gezeigt wird, noch für die speziellen gerichtsmedizinischen Fragestellungen, Anwendung finden, wie vor allem für die Todeszeitbestimmung (weiteres s. unten). (Einschlägig sind hier u. a. die Untersuchungen von STOSSEL, 1950, sowie von BECKER et al., 1954; JANSSEN et al., 1964; NANIKAWA et al., 1965, besonders aus dem gerichtsmedizinischen Schrifttum.)

Doch zurück zu den Bindegewebsfasern und den daran durch die vorgenannten Prozesse ausgelösten funktionellen Faserveränderungen, die wir systematisch mit FREYTAG, v. SCHWEINTZ, JASPER und BRACK (1957—1965) untersucht haben. Geprüft wurden dabei 1. die Quellbarkeit, 2. die Zug- und Reißfestigkeit, 3. die sog. chemische Kontraktion und ihre mögliche Aufhebung, 4. die Wärmekontraktion, 5. die Dehnung und die Elastizität kollagener Fasern mit anschließenden histologisch-histochemischen, polarisations- und phasenkontrastmikroskopischen Prüfungen der belasteten oder vorgeschädigten Fasern sowie mit teilweisen papierchromatographischen Analysen der jeweiligen Inkubationslösungen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind vielseitig und vielfältig. Hier interessiert aber vor allem die Feststellung, daß die peri- und interfibrillären Kittsubstanzen für die mechanischen Eigenschaften der Kollagenfaser entscheidend sind. Mechanische, chemische und anderweitige Schädigungen führen bereits durch die beschriebenen Veränderungen des Wassergehaltes und Polymerisationsgrades und damit der Viskosität der Kittsubstanz zu erheblichen Beziehungsstörungen zwischen Kittsubstanz und Fibrillen. Dabei werden zuerst die zwischen größeren Kollagenfaserbündeln gelegenen Kittsubstanzanteile betroffen, im weiteren Verlauf der Schädigung dann auch die interfibrillären und interfilamentären, assoziativ gebundenen Kohlenhydrat-Eiweißgemische. Da die normale Funktion der Kollagenfasern auf den engen Wechselbeziehungen zwischen ihren faserigen und nicht-faserigen Polypeptid- und Polysaccharidanteilen beruht, sind die mannigfaltigen, folgenden Veränderungen der Kollagenfaserfunktion verständlich. Mit (im Druck nicht erscheinenden) Abbildungsbeispielen werden diese Funktionsstörungen demonstriert, einschließlich des besonders bekannten Phänomens der chemischen sowie der thermischen Kontraktion und Relaxation.

Die Säurekontraktion der Kollagenfaser könnte mit dem Phänomen des sog. „pH-Muskels“ verglichen werden, unter der gleichzeitigen Annahme, daß eine Neutralisierung der basischen Gruppen der Polypeptidketten des Kollagen (und eine Vernetzung der Kittsubstanzanteile) durch die Säureeinwirkung zur Faserkontraktion führt. Diese Vorstellung berücksichtigt u. E. jedoch nicht die komplizierten Verhältnisse der im einzelnen durchaus noch nicht geklärten Beziehungen zwischen den Kollagenfibrillen und ihren interfibrillären Kittsubstanzanteilen. Das vorliegende biologische System ist demnach viel komplizierter als das aus künstlichen Makromolekülen gebildete, an dem KÜHN u. Mitarb. ihre Beobachtungen über das Gleichgewicht zwischen der bei chemischer Dehnung aufgewendeten chemischen Energie und der mechanischen Energie gewannen, welche bei der Kontraktion geleistet wurde. Die von uns erhobenen Befunde der chemischen Kontraktion und deren Aufhebung an der Kollagenfaser sind ebenfalls nicht durch

einfache, mit Verkürzung einhergehende Quellungsvorgänge bzw. durch eine Beseitigung der dabei aufgetretenen, reversiblen Wassereinlagerung durch sog. entquellende Lösungen zu erklären. Die im einzelnen dabei erhobenen Befunde lassen erkennen, daß die Dehnung und die Elastizität kollagener Fasern durch Einflüsse des umgebenden Milieu verändert werden können, z.T. so stark, daß eine an sich unelastische Kollagenfaser elastisch wird, in besonderen Fällen wie eine Elasticafaser.

Schließlich werden kurze Beispiele entsprechender Untersuchungen an elastischen Fasern gezeigt, die wir speziell mit v. SCHWEINITZ und

Dehnung und Elastizitätsverlust elastischer Fasern (bei steigender Belastung)

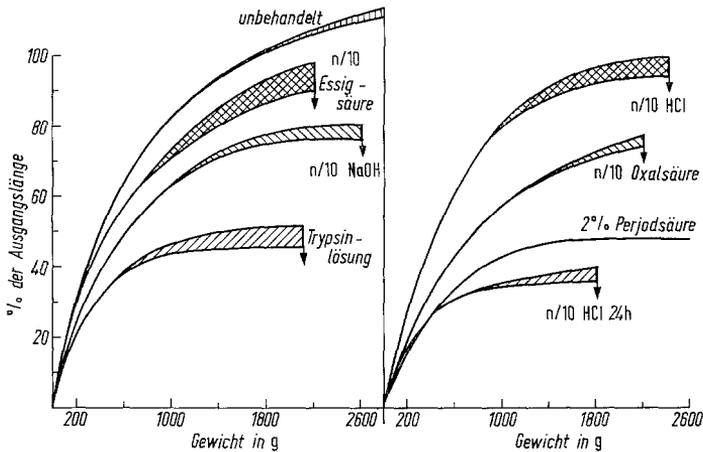


Abb. 5. Beispiele von Belastungsversuchen an elastischen Fasern in verschiedenen Medien am Kymographen: Die erste ansteigende Linie stellt jeweils die zunächst steiler, dann flacher verlaufende Dehnungskurve elastischer Fasern unter zunehmender Gewichtsbelastung in den einzelnen Lösungen dar, und zwar in Prozenten der jeweils gleichen Ausgangslänge. Dabei wird deutlich, daß ein unbehandeltes elastisches Faserbündel auf mehr als das Doppelte seiner ursprünglichen Länge gedehnt werden kann. Die Dehnungsfähigkeit ist in anderen Medien geringer und wie bei den Kollagenfasern (s. oben) nicht allein vom pH-Wert, sondern offenbar auch von spezifischen Einwirkungen der verwendeten Stoffe auf die Faserbausteine abhängig. Der Pfeil markiert jeweils die Zerreißgrenze der elastischen Fasern. Die zweite Linie gibt den Elastizitätsverlust bei steigender Belastung an. Die Faser wird nach Entlastung um den aufgezeigten Prozentsatz der Ausgangslänge länger, sie ist in den verschiedenen Inkubationslösungen von einer unterschiedlichen Belastung an nicht mehr völlig elastisch. Der Überdehnungsvorgang ist zunächst ähnlich zu erklären wie bei den kollagenen Fasern

FREYTAG (1960) durchführten. Abb. 5 wird als Beispiel dafür auch im Druck vorgewiesen.

Prinzipiell ergibt sich aus diesen Untersuchungen, daß elastische Fasern auf chemische, mechanische und weitere Schädigungen anders als kollagene Fasern reagieren, bedingt offenbar durch den verschiedenen morphologischen und chemischen Aufbau.

Die mit den verschiedenen genannten Methoden an geschädigten kollagenen und elastischen Bindegeweben durchgeführten Untersuchungen haben keine Möglichkeit dafür ergeben, spezielle und sichere Unterscheidungen intravitale Verletzungen von solchen durchzuführen, welche in der Intermediärphase entstanden. Das gilt speziell auch für alle

histochemischen, polarisationsmikroskopischen und phasenkontrastmikroskopischen Vergleichsuntersuchungen an Modellpräparaten wie an Präparaten tierexperimentellen und menschlichen Materials. Diese Verfahren sind nach unseren Erfahrungen also nicht für Routineuntersuchungen geeignet. Außerdem können die (im Referat anhand von farbigen Abbildungsbeispielen belegten) Befunde prä- wie postmortal erzeugt werden, sind also *nicht* als sichere vitale Reaktion verwertbar! Das ist zumindest der bisherige Stand der Dinge auf diesem Gebiet.

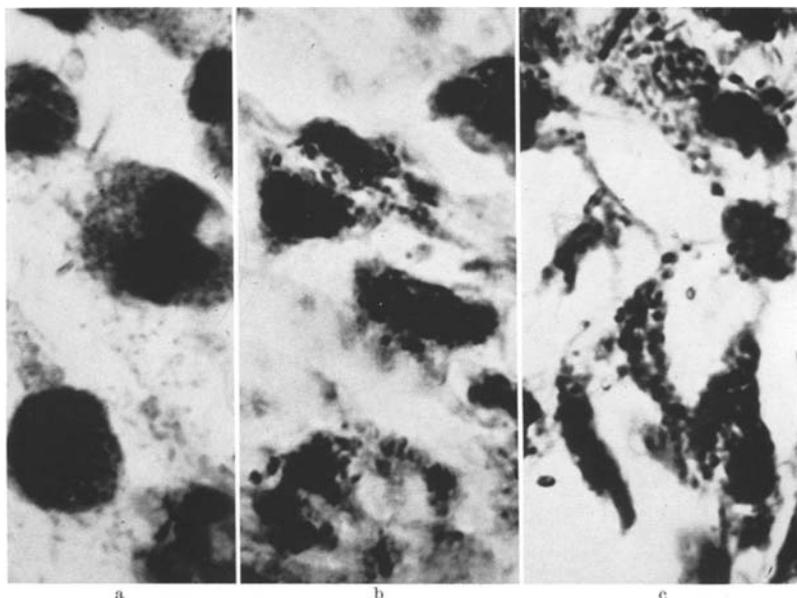


Abb. 6. a Nachweis unspezifischer *Esterase* in Histiocyten und Makrophagen (Polyblasten), Azokupplungsverfahren: α -Naphthylacetat als Substrat und Echtrotsalz TR als Kupplungssalz. b β -*Glucuronidase*-Nachweis an aktivierten Reticulumzellen, Pericyten und Makrophagen (simultane Azokupplungsmethode: 8-Hydroxyquinolinglucuronid als Substrat und Echtblausalz RR als Kupplungssalz). c *Leucinaminopeptidase*-Nachweis in Reticulumzellen, Fibroblasten und Makrophagen (Azokupplungsverfahren L-Leucyl- β -Naphthylamid als Substrat und Echtrotsalz ITR als Diazoniumsalz)

(Einschlägig sind hier die Untersuchungen von FOERSTER, 1933; ÖKRÖS, 1938; PENTMANN, 1926 u. a. aus dem gerichtsmedizinischen Schrifttum.)

Nach der Besprechung der Grundsubstanz- und nun der Faserreaktionen kommen wir zu den *Bindegewebszellen* und den daran feststellbaren vitalen Zeichen (s. Tabelle 1a und b).

Zellaktivierungen mit *Fermentaktivierungen und -synthesen* sind mit den heute verfügbaren *fermenthistochemischen* Verfahren schon innerhalb der ersten 60 min nach intravitaler Verletzung zu sehen und danach mehrere Tage postmortal nachweisbar. Phagocytosen mit Stoffabbau sind die Ursache.

In Abb. 6 werden einige Beispiele vorgewiesen.

Die letzten beiden Enzyme, β -Glucuronidase und Aminopeptidase, beteiligen sich besonders am Abbau der freigesetzten MPS-Proteinkomplexe. Alle weiteren Details über moderne fermenthistochemische Untersuchungen an Bindegewebszellen sind den einschlägigen Arbeiten, besonders von LINDNER u. Mitarb., speziell im Referat „Weitere Befunde zur Enzymhistochemie der Bindegewebszellen“ (8. Symposium der Verhandlung der Gesellschaft für Histochemie, LINDNER, 1962) zu entnehmen.

In der 3. Tabelle ist eine Zusammenfassung der fermenthistochemischen Befunde an Bindegewebszellen im frühen Entzündungsstadium enthalten.

Ruhende Zellen zeigen bei gleichen fermenthistochemischen Nachweisbedingungen keine oder nur geringe Enzymaktivitäten. Erst die Phagozytose von traumatisch oder entzündlich aufgelösten Gewebsteilen sowie von Entzündungserregern führt zur Aktivierung und Synthese der in der Tabelle nach ihrem Intensitäts- und Häufigkeitsgrad aufgeführten Enzyme und zu ihrer adaptiven bzw. induktiven Synthese. Die Enzymmuster von Makrophagen und Riesenzellen sind sehr ähnlich. Das ist ein weiterer Beweis dafür, daß auch Riesenzellen einen erheblichen Stoffwechsel besitzen und am Abbau des aufgelösten Gewebsmaterials sowie der an der Entzündung und dem Trauma beteiligten Fremdstoffe mitwirken.

Aus unseren Untersuchungen geht klar hervor, daß derartige intracelluläre Fermentaktivierungen und -synthesen bereits innerhalb der ersten 2 Std nach Entzündungs- und Wundheilungsbeginn mit modernen morphologischen Methoden nachweisbar sind. Sie werden durch intracelluläre Stoffabbau-, Umbau- und Aufbauprozesse bei der entzündlichen und posttraumatischen Gewebsreinigung hervorgerufen.

Aus den Untersuchungen (s. Tabelle 3) geht weiter hervor, daß Bindegewebszellen den Epithelzellen vergleichbare Enzymmuster besitzen sowie eine beträchtliche Stoffwechsel- und Leistungsgröße. Die prospektiven Potenzen der Bindegewebszellen sind erheblich. Die erhobenen fermenthistochemischen Befunde zeigen, daß Funktion und Leistung der Bindegewebszellen stärker differenziert sind als ihre Gestalt. Die zelltypischen Unterschiede von Enzymlokalisationen und deren Abhängigkeiten sind nachweisbar. Schließlich lassen sich qualitative und quantitative *Unterschiede der Enzymmuster* der einzelnen Bindegewebszellen aufgrund moderner fermenthistochemischer Untersuchungen darstellen. Aufgrund der erhobenen, in Tabelle 3 zusammengefaßten Ergebnisse ist eine induktive Enzymsynthese in Bindegewebszellen in hohem Grade wahrscheinlich.

Bei den dargestellten Befunden handelt es sich also um sog. adaptive und induktive Fermentaktivierungen und -synthesen. Derartige Synthesen werden nach unseren heutigen Kenntnissen durch die Zunahme des *RNS-* und *DNS-Gehaltes* der Zellen eingeleitet und vorbereitet. Bereits mit bausteinhistochemischen Methoden zum Nachweis dieser Ribonucleoproteide ist die Synthese dieser Matrizenribonucleoproteide für die Synthese der Fermenteiweiße ebenso nachweisbar und von uns nachgewiesen worden, wie mit autoradiographischen Methoden unter Verwendung markierter Kernbausteine oder durch elektronenmikroskopische Verfahren (durch verschiedene Autoren).

Tabelle 3. Zusammenfassung der fermenthistochemischen Untersuchungsergebnisse an Bindegewebszellen: Überblick über die zelltypischen Enzymmuster

Fermente	Phosphatasen						Hydralasen					L./S.		Oxydoreduktasen			
	Alk. Phosph.	Saure Phosph.	5-Nucl. Phosph.	Gluc. 6-Phosph.	ATPase	Phosphamidase	unsp. Esterase	Carbox-Esterasen	Sulf. Aryl-Sulfatase	Pept. Amino-pept. Glucur. Galakt.	β - β -Glykosidasen	Carbo-anhydr.	Per-oxyd.	Cytoch. oxyd.	Succ. Dehyd.	DPN	TPN
Bindegewebs-Zellen																	
Ruh. Ret. Endoth.																	
Ruh. Fibrozyten																	
Ruh. Perizyten																	
Akt. Fibroblasten																	
Akt. Perizyten usw.																	
Akt. Ret. Endoth.																	
Monozyten																	
kl. Histiozyten																	
gr. Makrophagen (Phagozyten)																	
Riesenzellen																	
Leukozyten																	
Plasmazellen																	
Mastzellen																	
Lymphozyten																	

Häufigkeits- und Intensitätsgrad des Nachweises: 0 (-) = 1 = 2 = 3 = 4 = 5 = *

* Stärkste Intensität. Im Original voll ausgefüllte Kästen, im Druck aus technischen Gründen nur schraffiert

Vor allem RAEKALLIO (1961, 1964) hat das entscheidende gerichtsmedizinische Problem der Zeitbestimmung von Verletzungen anhand der gezeigten Enzymmuster der Bindegewebszellen systematisch untersucht. In Abb. 7 ist ein Beispiel unserer entsprechenden Paralleluntersuchungen enthalten.

An Ratten wie an Meerschweinchen sowie bei Menschen konnten wir bisher die Befunde von RAEKALLIO (1961, 1964) bestätigen, die hier

von ihm detailliert vorgetragen werden, so daß ich auf Grund unserer eigenen Untersuchungen nun zusammenfassend zu der hier entscheidenden gerichtsmedizinischen Frage feststellen kann:

1. Die gezeigten fermenthistochemischen Befunde sind sichere intravitale Reaktionen und können danach postmortal (also nach intravitale Verletzung) noch eine Reihe von Tagen nachgewiesen werden.

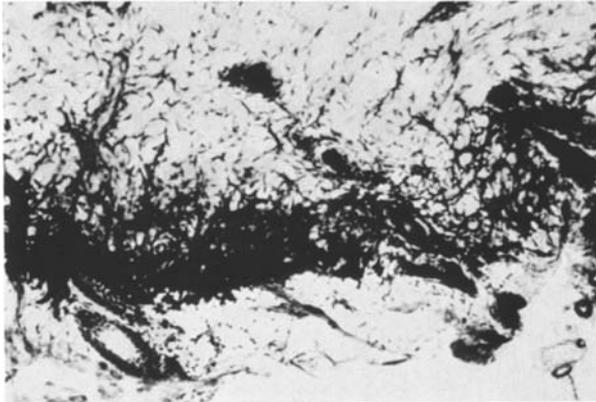


Abb. 7. Nachweis der *alkalischen Phosphatase* in einer 12 Std alten Rattenhautwunde

2. Diese fermenthistochemischen Befunde an Bindegewebszellen können an agonal gesetzten Wunden nur sehr unvollständig und schwach, an sofort nach dem Tode gesetzten Wunden praktisch nicht hervorgerufen werden.

3. Die ihnen primär zugrunde liegenden Zellaktivierungen und Phagozytosen können sehr spärlich auch unmittelbar nach dem Tode provoziert werden, was theoretisch hochinteressant, für die Praxis bisher jedoch ohne wesentliche Bedeutung ist.

4. Diese Feststellungen sind nicht endgültig, sondern von der weiteren Methodenentwicklung abhängig. Für eine Diskussions der dazu erforderlichen und bereits z.T. von verschiedenen Autoren eingeschlagenen Wege zur Verbesserung der fermenthistochemischen Methodik ist hier nicht der Platz.

5. *Zeitbestimmungen* anhand der bisher vorliegenden fermenthistochemischen Befunde sind bisher nur mit Einschränkungen und nicht mit absoluter Sicherheit möglich.

6. Da Bindegewebszellen in der Intermediärphase eine verschieden lange Zeit weiterleben, sind also mit voller Berechtigung von Verbesserungen der zur Verwendung kommenden histochemischen Methoden weitere theoretisch und praktisch wichtige Ergebnisse für die Gerichtsmedizin zu erwarten.

Das gilt vor allem auch für moderne *vergleichende morphologische und radiochemische Methoden* unter Verwendung von *Radioisotopen*, die wir mit unseren Mitarbeitern seit Jahren durchführen.

Zunächst wird hier gezeigt, daß die moderne Bindegewebforschung sich ganz allgemein dieser Supravitalphase bei ihren *in vitro*-Untersuchungen systematisch bedient.

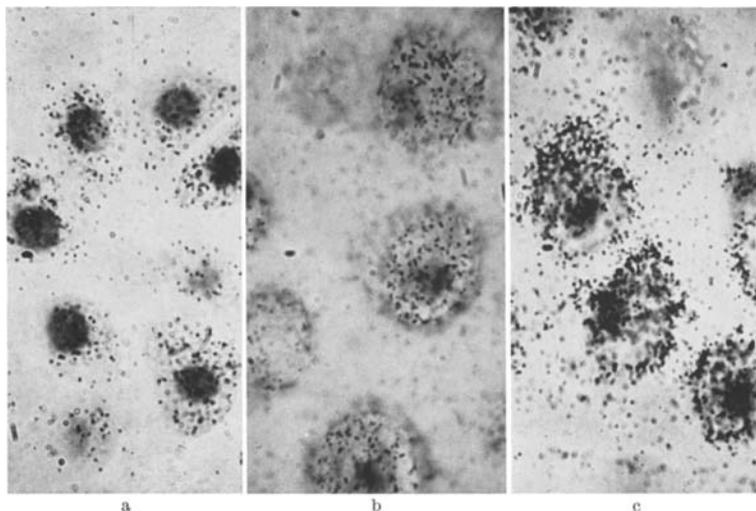


Abb. 8. *Autoradiogramme* von Knorpelgewebe 8 Tage alter Ratten nach 4stündiger Inkubation (bei gleichzeitiger Bestimmung des Sauerstoffverbrauches) in der Warburgapparatur, links nach Zusatz von ^{35}S -Sulfat, in der Mitte nach Zusatz von ^3H -Prolin und rechts außen nach gleichzeitiger Gabe beider Substanzen, in dieser Serie auch in gleicher Menge (von jeweils 5 Mikrocurie auf 100 mg Knorpel-Frischgewicht)

Von diesen umfangreichen Untersuchungen wird in Abb. 8 ein wesentliches Beispiel vorgewiesen.

Aus Abb. 8 geht klar hervor, daß Knorpelzellen in der Supravitalphase nach Warburg-Inkubation mit ^{35}S -Sulfat saure Mucopolysaccharide synthetisieren und nach Gabe von ^3H -Prolin gleichfalls wie *in vivo* die Synthese von Kollagen durchführen. Durch die kombinierte Gabe von ^{35}S -Sulfat und ^3H -Prolin wurde ebenfalls in der Supravitalphase die wesentliche Frage der zeitlichen und örtlichen Beziehung dieser beiden Bildungsprozesse zueinander geprüft (mit Variationen der Inkorporationszeit und Dosis, der Expositionszeit und -art mit Verwendung von Filtern, Mehrfachbelegungen und weiteren technischen Hilfen zur Sicherung des autoradiographischen Nachweises sog. Doppelmarkierungen). Wie aus dem dritten Abschnitt der Abb. 8 hervorgeht, konnten die bisherigen Befunde dieser umfangreichen Untersuchungen wahrscheinlich machen, daß auch in der Supravitalphase in ein und derselben Knorpelzelle zur gleichen Zeit Mucopolysaccharid- und Kollagensynthese-Vorgänge stattfinden können.

Die gleiche Situation, nämlich die *in vitro*-Synthese-Fähigkeit von MPS und Kollagen, gilt auch für Fibroblasten der Haut, der Gefäßwand usw. sowie für Osteoblasten.

Das ist der lokalisatorische Beweis dafür, daß nicht nur intravital, sondern auch supravital Mucopolysaccharide und Kollagen in den

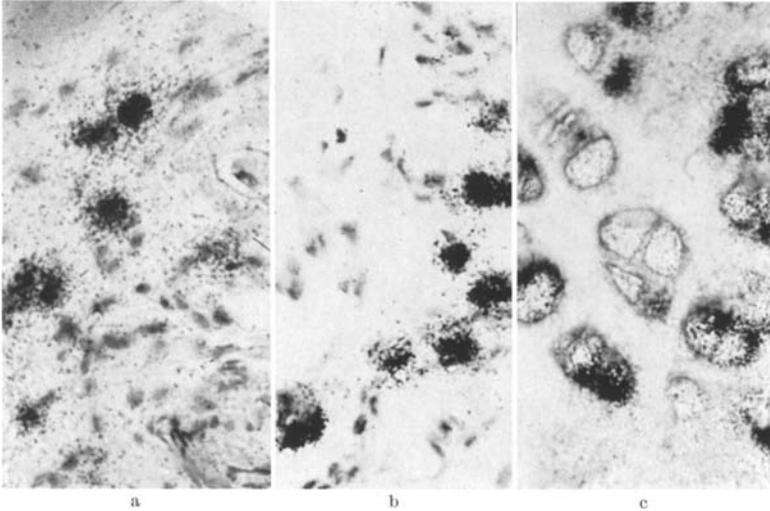


Abb. 9a. *Autoradiogramm* mit Nachweis der ^{35}S -Sulfat-Inkorporation und Mucopolysaccharid-synthese nach in vivo-Applikation von ^{35}S -Sulfat in Fibroblasten und Mastzellen des posttraumatisch entstandenen Granulationsgewebes der Rattencutis

Abb. 9b. Entsprechendes *Autoradiogramm* nach in vitro-Inkubation des gleichen Granulationsgewebes mit ^{35}S -Sulfat in der Warburg-Apparatur mit Nachweis der in der Supravitalphase in gleicher Weise erfolgenden ^{35}S -Sulfat-Inkorporation und Mucopolysaccharidsynthese in den gleichen Zellformen wie in Abb. 9a

Abb. 9c. *Autoradiogramm* menschlichen Knorpelgewebes nach in vitro-Inkubation mit ^{35}S -Sulfat in der Warburg-Apparatur (4 Std) mit Nachweis der ^{35}S -Sulfat-Inkorporation und Mucopolysaccharid-Synthese in menschlichen Knorpelzellen in der Supravitalphase

verschiedenen Bindegewebszellen synthetisiert werden. Die autoradiographischen Befunde nach in vivo-Inkorporation entsprechen den autoradiographischen Befunden nach in vitro-Inkorporation, also in der

Nachweis der Sofortreaktion d. Bindegewebes

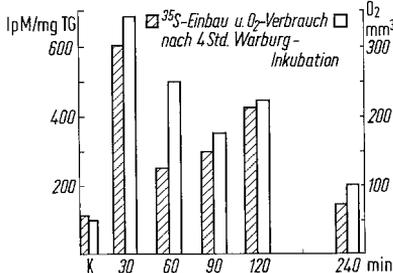


Abb. 10. Einzelheiten s. Abbildungsbeschriftung und Text (fortlaufend in nummerierten, zusammenfassenden Feststellungen der Hauptbefunde)

Mucopolysaccharide und deren Proteinkomplexanteile sowie Faserkollagen, ebenso zu synthetisieren wie intravital.

Supravitalphase. Dazu wird als Beleg Abb. 9 vorgewiesen.

Wie aus den umfangreichen Untersuchungen unserer und anderer Arbeitskreise hervorgeht und in Abb. 9 als Beispiel gezeigt wurde, sind die verschiedenen Bindegewebszellen durchaus in der Lage, in der Supravital- bzw. Intermediärphase eine bestimmte Zeit lang die spezifischen Bildungsprodukte, also die

Aus diesen hochinteressanten Befunden erhebt sich natürlich für den Gerichtsmediziner die Frage, ob diese modernen Methoden für die *Bestimmung der Todeszeit* verwendet werden können. Wir haben diese Frage mit unseren Mitarbeitern systematisch untersucht. Dazu waren nicht nur die gezeigten morphologischen Lokalisationen der genannten Syntheseprozesse erforderlich, sondern vor allem ihre quantitative Bestimmung.

Diese erfolgte an dazu geeigneten Meßplätzen. Wir führten unsere quantitativen radiochemischen Bestimmungen an einem Methandurchflußzähler der Firma

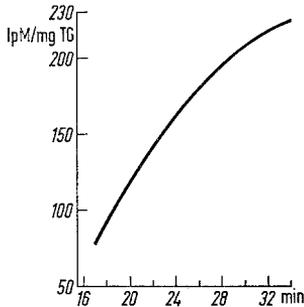


Abb. 11

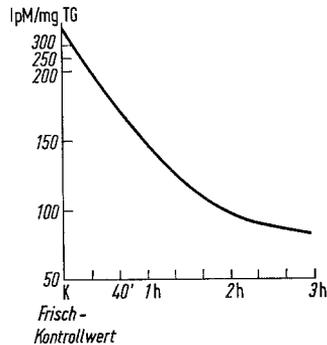


Abb. 12

Abb. 11. Innerhalb der ersten 35 min nach dem Individualtod einsetzende primäre Aktivierung der ^{35}S -Einbaurate in Meerschweinchenhaut (während der folgenden 4 Std-Warburg-Inkubation). Einzelheiten s. Abbildungsbeschriftung und Text

Abb. 12. Durch Halten der isolierten Meerschweinchenhaut bei 37°C in feuchter Wärme innerhalb von 3 Std absinkende Fähigkeit zum ^{35}S -Einbau während der anschließenden 4 Std-Warburg-Inkubation. (Autolyse-Versuch). Einzelheiten s. Abbildungsbeschriftung und Text

Frieseke und Höpfner sowie an einem Flüssigkeitsszintillationsspektrometer der Firma Packard durch. Einzelheiten zur Methodik sind aus den Mitteilungen von LINDNER u. Mitarb. (1962—1965) zu entnehmen. Unsere bisherigen Ergebnisse werden anhand der Abb. 10—14 zusammengefaßt.

1. Wie aus Abb. 10 hervorgeht, führen 30 min vor dem Tode an der Ratte gesetzte Verletzungen innerhalb dieser kurzen Zeit zu einer mehrfachen Steigerung des ^{35}S -Sulfat-Einbaues und damit der Mucopolysaccharidsynthese sowie des Sauerstoffverbrauches gegenüber der unverletzten Kontrollhaut. Diese *Sofortreaktion* ist der Beweis der genannten, äußerst raschen Stoffwechselreaktion des verletzten Bindegewebes. Danach folgen die sog. lag-time und dann die charakteristischen Maxima und Minima im weiteren Verlauf der Entzündung und Wundheilung, die von LINDNER u. Mitarb. im einzelnen dargestellt und mitgeteilt wurden (LINDNER et al., 1962—1965).

2. Von der in Abb. 10 gezeigten Verletzungsaktivierung zu unterscheiden ist die deutlich niedrigere, aber in Abb. 11 als eindeutig dargestellte *Aktivierung des Bindegewebsstoffwechsels in den ersten 35 min nach dem Individualtod*, die eine eindeutige postmortale Reaktion darstellt, in Abb. 11 an Meerschweinchenhaut geprüft. Die bisherigen Ergebnisse an Menschenhaut sind entsprechend.

3. Isoliert man die Haut und hält sie bei feuchter Wärme von 37°, als forcierte *Autolyse* bezeichnet, dann fällt die ^{35}S -Inkorporationsrate in der in Abb. 12 gezeigten Weise in den ersten 3 Std ab.

4. Friert man die isolierte Haut dagegen ein, dann tritt in den ersten Tagen ein deutlicher Abfall des anschließend geprüften ^{35}S -Einbaues ein, der dann bis zu 28 Tagen auf dem in Abb. 13 gezeigten Minimalwert bleibt.

Diese an Rattenhaut erhobenen Befunde konnten wir bei den bisherigen Versuchen an Menschenhaut bestätigen.

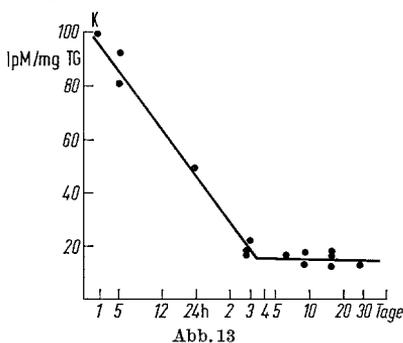


Abb. 13

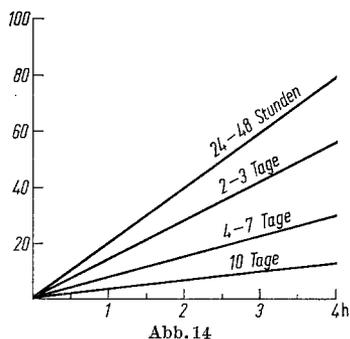


Abb. 14

Abb. 13. Zeitabhängiger Kälteeinfluß auf den ^{35}S -Einbau in Ratten-Rückenhaut (bei folgender 4-Std-Warburg-Inkubation). Einzelheiten s. Abbildungsbeschriftung und Text

Abb. 14. O_2 -Verbrauch in Abhängigkeit von der p.m.-Zeit (menschl. Leichenhaut). Einzelheiten s. Abbildungsbeschriftung und folgenden Text

Das ist gerichtsmedizinisch zur Frage des Nachweises von Stoffwechselgrößen für Zeitbestimmungen an unterkühlten Leichen etc. im Rahmen der intravitalen Reaktion nicht nur theoretisch, sondern eventuell auch für die praktische Auswertung bedeutsam, wie oben bereits gesagt wurde.

5. Denn auch die Haut menschlicher Leichen zeigt nicht nur über längere Zeit und dabei abfallend die in Abb. 14 dargestellten Sauerstoff-Verbrauchsraten, sondern auch entsprechende ^{35}S -Inkorporationsraten-Änderungen.

Die in Abb. 10—14 dargestellten Befunde sind die zum Zeitpunkt des Referates von uns gewonnenen. Wir haben bis zur Drucklegung des Referates weitere Untersuchungen angestellt und z.T. Verbesserungen der aufgezeigten Befunde finden können. Danach ist anzunehmen, daß die entscheidende Frage zu diesen Untersuchungen, nämlich ihre praktische Verwendung zur Bestimmung des Zeitpunktes des Todesintrittes, klärbar ist. Es wird Aufgabe der weiteren Untersuchungen sein, festzustellen, in welchem Maße die eine oder andere der gezeigten modernen morphologischen und vergleichenden radiochemischen Untersuchungen in der Lage ist, die entscheidenden gerichtsmedizinischen Probleme unseres Hauptthemas weiter zu klären und abzusichern. Die zuletzt an Beispielen gezeigten radiochemischen Verfahren sind nach unseren Erfahrungen dazu besonders geeignet.

Tabelle 4. Zusammenfassende Darstellung des Zeitplanes des Entzündungsablaufes aufgrund der bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse

Schema des zeitlichen Ablaufes der *Entzündung* (an Hand des morphologisch, biochemisch und radiochemisch zur Zeit erfaßbaren *Startes* der wichtigsten Einzelphasen).

1.—4. Std	<p>Primäre Acidose mit Störung der Elektrolyt- und Wasserverteilung: Grundsubstanzenmischung = primäre physikalisch-chemische Zustandsänderung mit Desaggregation, Kolloiddispersion, Depolymerisierung usw. der MPS-Protein-Komplexe mit Störung der Isonomie, Isoosmie und Isotonie.</p> <p>Faseraufquellung (durch Beteiligung der interfibrillären Kittsubstanz am Grundsubstanzenmischungsablauf und interkristalline Quellung).</p> <p>Zelldemaskierung, -reizung, -aufquellung mit Beginn von Pino- und Phagozytose sowie Enzymaktivierung der ortständigen Bindegewebszellen (Fibrocyten, Gefäßwandzellen usw.), RNS-Synthese und adaptive bzw. induktive Enzymsynthesen.</p> <p>Mastzellen-Degranulierung = Freisetzung von Heparin und Histamin (speciesabhängig auch von Serotonin usw.) mit Gefäß-, Zell- und Zwischensubstanzwirkungen (Permeabilitäts-, Diffusions-, Entgiftungs-, Fermenthemmungs- und weitere Einflüsse).</p> <p>Capillarwand-Permeabilitätsänderung durch Beteiligung der Basalmembran an den genannten Entmischungs- und Aufquellungsvorgängen der Zwischensubstanz mit Einfluß auf die Capillarfunktion: Prästase, Stase, Hypoxie, entzündliche Hyperämie; Serum- (Fibrin-), Ery-, Leuko-, usw. Austritte:</p> <p>Permeation, Exsudation und Emigration.</p> <p>³⁵S-Sulfat-Inkorporationszunahme = Sulfatierung und Synthese von MPS (anabole und katabole Prozesse).</p>
4.—12. Std	<p>Sekundäre Acidose: Fortsetzung der Grundsubstanzveränderung mit wechselnder Dysionie und Dysosmie, Quellung und Entquellung, Auftreten von Denaturierungs- und Degenerationsprodukten des Kollagen mit folgendem Abbau durch unspez. Proteasen, allgemeiner Zerfall der am stärksten geschädigten zelligen und zwischenzelligen Bindegewebsbestandteile des Entzündungsfeldes: Zunahme des intra- und extracellulären <i>Katabolismus</i>, von Glykolyse, Proteolyse, Lipolyse usw.: Zunahme von gefäßaktiven Abbauprodukten usw.</p>
12.—36. Std	<p>Weitere Zunahme der initialen, katabolen Prozesse, deren Intensität und Dauer vom Ort der Entzündung ebenso wie von Art, Stärke und Dauer des Entzündungsreizes abhängt; zunehmende gleichzeitige Überlagerung der katabolen Vorgänge mit den genannten primären und den folgenden sekundären anabolen Prozessen: Zellproliferationen (³H-Thymidin- und Mitoseraten-Indices), spez. Fibroblastenproliferation (hämatogene und lokale Genese).</p>
48.—72. Std	<p>Histochemischer, autoradiographischer und radiochemischer (mit ³⁵S-Sulfat) sowie biochemischer (Uronsäuren-, Hexosamin-, MPS-) Nachweis der Grundsubstanz-Synthese (intra- und extracellulär).</p>
3.—4. Tag	<p>In gleicher methodischer Reihenfolge erfolgter Nachweis der Fasersynthese (mit ³H-Prolin, Hydroxyprolin-Best. usw.). Capillarisierung.</p>

4.—6. Tag	Verschiebung des Zellverhältnisses mit Abnahme von Mikro- und Makrophagen zugunsten ausreifender Fibroblasten, Mastzellenneubildung.
6.—10. Tag	Abnahme des Wassergehaltes, Zunahme des Polymerisationsgrades der Grundsubstanz mit Abnahme der histochemischen Anfärbbarkeit und Zunahme des physikochemischen Gleichgewichtes bzw. der Eukolloidalität der Grundsubstanz; Verschiebung des Verhältnisses der Kollagenfraktionen (zugunsten der schwerer löslichen und unlöslichen) mit steigender Zahl der intramolekularen Kreuzbindungen des Kollagens.

Die vollständige oder unvollständige Wiederherstellung der Ausgangssituation ist qualitativ und zeitlich abhängig von der Lokalisation des betroffenen Gewebes sowie von Art, Grad und Einwirkungsdauer der Entzündungsursache (neben dem Einfluß individueller Faktoren sowie der Reaktionslage und -eigenschaften sowie mannigfaltiger Regulationen des Gesamtorganismus).

Wir kommen zur Zusammenfassung in Form der in Tabelle 4 dargestellten Abschlußbilder. Sie geben einen genauen Zeitplan des Entzündungsablaufes nach den bisher vorliegenden Ergebnissen. Viele der darin angeführten Einzelschritte sind im Verlauf dieses Referates besprochen worden. Man ersieht daraus, wie rasch diese Einzelschritte nach Entzündungs- oder Verletzungsbeginn einsetzen, daß bereits in der 1.—4. Std nach Entzündungs- oder Verletzungsbeginn katabole und anabole Prozesse im geschädigten Bindegewebe starten, daß auch in den weiteren Stunden danach anabole und katabole Prozesse miteinander kombiniert sind usw.

Man ersieht ferner aus den am Schluß dieses Referates gezeigten Zusammenfassungen unserer bisherigen Ergebnisse, zu welchem Zeitpunkt nach einer Verletzung welche Entzündungsbefunde erfaßbar sind, denn nicht der Zeitpunkt ihres Maximum, sondern der mit den heute verfügbaren Methoden erfaßbare Zeitpunkt ihres Startes sind darin aufgeführt.

Aus den letzten, davor gezeigten Beispielen unserer vergleichenden morphologischen und radiochemischen Untersuchungen zur vitalen Reaktion war ferner zu entnehmen, daß nicht nur intravital, sondern auch supravital Synthesevorgänge von Mucopolysacchariden und Kollagen histologisch lokalisiert und radio- wie biochemisch quantitativ exakt bestimmt werden können.

Unsere Schlußfolgerungen sind in der Zusammenfassung nach dem bisherigen Stand der vorliegenden Ergebnisse aufgeführt worden.

Zusammenfassung

1. Lokale vitale Reaktionen am Bindegewebe auf intravitale Schäden treten sofort auf und laufen nach dem Tode in der Intermediärphase eine gewisse, von äußeren und inneren Faktoren abhängige Zeit weiter!

2. In der Intermediärphase postmortal gesetzte Reize können zu qualitativ vergleichbaren, aber quantitativ verminderten Reaktionen führen wie intravitale Schäden!

3. Mit Erliegen von Kreislauf, Atmung und Zentralnervensystem sind aber in der Intermediärphase nur die frühen entzündlichen Reaktionen durch sofort oder kurze Zeit nach dem Tode einwirkende Schäden

hervorzurufen, jedoch nicht das Vollbild der Entzündung! Das ist von entscheidender Bedeutung für die gerichtsmedizinische Praxis zur Bestimmung vitaler Reaktionen!

4. Moderne vergleichende morphologische, biochemische und radiochemische Verfahren sind in der Lage, früher und genauer diese primären Folgen von Schäden zu erfassen und könnten bei entsprechender Weiterentwicklung in der Zukunft auch zur praktischen Bearbeitung der Zeitbestimmung intravital oder postmortal gesetzter Verletzungen Bedeutung gewinnen!

5. Das ist zur Zeit in den gezeigten Einzelheiten bereits möglich und praktisch nicht aufwendiger als die meisten toxikologischen Untersuchungen!

6. Die für diese Forschungen notwendige, einleitend gezeigte Einteilung in intravitale, agonale, während und unmittelbar nach Todesertritt entstehende Reaktionen gegenüber späten postmortalen und Fäulnisphänomenen ist durch die weitere wissenschaftliche Bearbeitung des gerichtsmedizinisch zentralen Problems der vitalen Reaktionen nicht erschwert, sondern gefördert worden!

7. Im zweiten und Hauptteil dieses Referates wurde die lokale Reaktion, also die vitale Reaktion im engeren Sinne behandelt, weil ihr in der Praxis wie in der wissenschaftlichen Bearbeitung die größte Bedeutung zukommt!

8. Im ersten Teil meines Referates wurden auch die wichtigsten allgemeinen vitalen Reaktionen besprochen, ohne auf jedes Detail eingehen zu können und zu wollen; denn sie sind im wesentlichen unveränderter Erfahrungsschatz der Gerichtsmedizin!

9. Die Entwicklung der letzten Jahrzehnte hat gezeigt, daß die alte Forderung der Gerichtsmedizin, neben der makroskopischen Diagnose und den Ermittlungsergebnissen mikroskopische und moderne Untersuchungsverfahren zur Feststellung vitaler Reaktionen zu verwenden, zunehmend berücksichtigt ist.

10. Dabei wird, wie auch in diesem Referat, deutlich, in welchem Umfang das Problem der vitalen Reaktion die verschiedenen medizinischen und naturwissenschaftlichen Fächer gemeinsam angeht, befruchtet und zusammenführt!

Auch das ist eine begrüßenswerte vitale Reaktion!

Ich danke Ihnen.

Literatur

- ASCHOFF, L.: Kreislaufstörungen. In: Pathologische Anatomie, hrsg. von L. ASCHOFF, Bd. I, S. 403. Jena 1936.
- BAHLMANN, CL.: Zur Frage der vitalen Reaktionen des Bindegewebes in Hämatomen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **32**, 133—144 (1939/40).
- BALÁZS, G.: Eigentümliche Hautbefunde nach Sturz ins Wasser. Dtsch. Z. ges. gericht. Med. **21**, 515—519 (1933).

- BECKER, K., u. J. LINDNER: Qualitative und quantitative immunologische Untersuchungen an der atherosklerotischen Gefäßwand. In: EMMRICH u. PERLICK, Gefäßwand und Blutplasma, S. 87—90. II. Symp. 8.—9. Oktober 1963, Leipzig. Jena: Gustav Fischer 1965.
- u. M. SCHMIDT: Neue radiochemische Untersuchungsbefunde bei der Atherosklerose. In: EMMRICH u. PERLICK, Gefäßwand und Blutplasma, S. 59—63. II. Symp. 8.—9. Oktober 1963, Leipzig. Jena: Gustav Fischer 1965.
- BECKER, V., u. E. RIEKEN: Histologische und manometrische Untersuchungen über die Zellatmung in der Niere. *Virchows Arch. path. Anat.* **325**, 1—14 (1954).
- BLUM, H.: Zur Frage der Unterschiedlichkeit vitaler und postmortaler Gewebsveränderungen am Beispiel der Strangfurchen beim Erhängungstod. *Virchows Arch. path. Anat.* **299**, 754—766 (1938).
- BRACK, W. J., J. LINDNER u. A. JASPER: Reaktionsformen von Kollagenfasern. II. Teil: Quellung, Kontraktion, Relaxation und Schrumpfung. *Acta histochem. (Jena)* **13**, 195—219 (1962).
- J. JASPER u. J. LINDNER: Reaktionsformen von Kollagenfasern. III. Mitt.: Zur Frage der Reversibilität der Quellung. *Acta histochem. (Jena)* **15**, 6—15 (1963).
- ECKSTEIN, M., J. LINDNER u. H. A. v. SCHWEINITZ: Das Säure-Basen-Gleichgewicht im Bindegewebe und davon abhängige Veränderungen unter dem Einfluß von Butazolidin. II. Mitt.: Praktische Durchführung der Untersuchungen. *Arzneimittel-Forsch.* **10**, 902—909 (1960).
- ESSER, A.: Zur Frage des Erwürgens ohne lokale anatomische Spuren beim Menschen und im Tierversuch. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **20**, 361—374 (1933).
- FOERSTER, A.: Vitale Reaktionen und die elastischen Längsfasern des Bronchus. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **21**, 158—163 (1933).
- Mikroskopische Untersuchungen über das Verhalten der Alveolen bei Verbrannten. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **23**, 281—288 (1934).
- FREYTAG, G., G. BOOS, R. DIEDERICH u. J. LINDNER: Fotometrische Untersuchungen zur Validität qualitativer und quantitativer MPS-Nachweisfärbungen. 5. Tagg A. G. Morphologie, Leipzig, Oktober 1964 (im Druck).
- J. LINDNER, G. JOHANNES, G. A. SCHLOSSER, W. REIHER, and J. SCHMIDT: Autoradiographical and radiochemical investigations on the bone fracture-healing. *Callus Symp. Debrecen 1965* (im Druck).
- FRTZ, E.: Mikroskopische Befunde am Verdauungsschlauch verkohlter Leichen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **23**, 19—28 (1934).
- GRIES, G., u. J. LINDNER: Zur Frage des Abbaues von Kollagen. *Klin. Wschr.* **38**, 406—407 (1960).
- — Untersuchungen über den Kollagenabbau bei akuten Entzündungen. *Z. Rheumaforsch.* **20**, 122—125 (1961).
- — On the problem of the collagen catabolism in animals. I. *Int. Congr. Histochem. and Cytochem. Paris 1960. Ann. Histochem., Suppl. I*, 8, 205—209 (1963).
- — Zur Frage des Kollagen-Abbaues bei verschiedenen Formen experimenteller Entzündungen. *Tagg Schweiz-Öst. u. Dtsch. Ges. Rheum. 1962, Bad Ragaz. Z. Rheumaforsch.* **22**, 439—443 (1963).
- GUSEK, W., u. J. LINDNER: Elektronenmikroskopische Untersuchungen intravitale Fermentdarstellungen an Ascites-Tumorzellen. *Frankfurt. Z. Path.* **69**, 633—643 (1959).
- HABERDA, A.: Über postmortales Entstehen von Ekchymosen. *Vjschr. gerichtl. Med.* **15**, 248—260 (1898).
- HALLERMANN u. ILLCHMANN-CHRIST: Über eigenartige Strangulationsbefunde. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **38**, 97 (1943).

- JANKOVICH, L., u. J. INCZE: Blutungen in den Lymphknoten des Halses beim Erhängungstod. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **20**, 122—133 (1933).
- JANSSEN, W., u. G. BÄRTSCH: Vitale und supravitale Reaktionen der Alveolarzellen nach protrahiertem Sauerstoffmangel. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **55**, 47—60 (1964).
- LANDE, P., et P. DERVILLÉE: Caractères et diagnostic médico-légal des blessures faites avant ou après la mort. *Ann. Méd. lég.* **15**, 603—656 (1935).
- LESSER, A.: Über Ödem nach postmortaler Quetschung. *Vjschr. gerichtl. Med.* **13**, 153—154 (1897).
- LESSER, H.: Über Folgeerscheinungen postmortaler mechanischer Gewalteinwirkungen. *Vjschr. gerichtl. Med.* **44**, 203—236 (1912).
- LINDNER, J.: Eine einfache Methode zur Analyse von Gewebsschnitten. *Naturwissenschaften* **43**, 201—202 (1956).
- Vergleichende histochemische und papierchromatographische Untersuchungen bei Entzündungsvorgängen an der Haut. 23. Tagg *Dtsch. Derm. Ges.* 1956. *Arch. klin. exp. Derm.* **206**, 379—394 (1957).
- Histochemische und papierchromatographische Untersuchungen am Knorpel. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* **96**, 407—408 (1957).
- Histochemische und biochemische Untersuchungen der traumatisch gestörten Beziehung zwischen Grundsubstanz und Kollagenfasern. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **43**, 61—69 (1959).
- Histochemische und fermenthistochemische Untersuchungen am Granulationsgewebe, S. 65—96. *Symp. Ital. Ges. u. Dtsch. Ges. Path., Mailand, Oktober 1959.* Milano: Idos Verlag 1960.
- Special polarisation-optical examination on connective tissue fibres altered experimentally. I. *Int. Congr. Histochem. a. Cytochem., Paris, 1960.* *Ann. Histochem., Suppl.* **2**, 143—206 (1962).
- Die Morphologie der Wundheilung. Einleitungsref. *Kongr. Dtsch. Ges. Chirurgie 1962.* *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **301**, 39—70 (1962).
- Weitere Befunde zur Enzymhistochemie der Bindegewebszellen. VIII. *Symp. Ges. Histochemie, Wien, 1962.* *Suppl.-Bd. 4 ad Acta histochem. (Jena)* 102—163 (1964).
- Kolloquium. Histochemische Methodik des Nachweises von Polysaccharidkomponenten in Schleimstoffen und Grundsubstanzen. VIII. *Symp. Ges. Histochemie, Wien, 1962,* *Suppl.-Bd. 5, ad Acta histochem. (Jena)* 190—211 (1965).
- Über die Synthese der organischen Interzellulärsbstanz im Knorpel und Knochen. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **47**, 100—102 (1963).
- Neue morphologische, biochemische und radiochemische Befunde zum Ablauf der Wundheilung. *Int. Symp. Davos, 10.—12. 4. 64* in: *Die posttraumatische Entzündung und ihre Behandlung*, S. 2—12. Basel u. New York: S. Karger 1965.
- J. BECKER u. M. SCHMIDT: On the relationships of vascular wall and connective tissue. *Histological, immunological and radiochemical investigations.* 3rd. *Europ. Conf. Microcirculation, Jerusalem, 1964.* *Bibl. anat. (Basel)* **7**, 167—171 (1965).
- G. GRIES, K. GRASEDYCK, G. BESTE, C. HOOSE, and S. STEINBACH: On the temporal course of wound healing with special reference to the synthesis of groundsubstance and fibrils (as demonstrated with morphological, biochemical and radiochemical examinations. *(Callus-Symposium Debrecen 1965)* (in press).
- , u. K. H. HÖLZER: Quantitative immunologische Eiweißbestimmung in nativen Gewebsschnitten. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **46**, 188—194 (1962).
- , u. H. A. v. SCHWEINITZ: Histochemische und fermenthistochemische Untersuchungen am Geschwulstgewebe. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **42**, 439—448 (1958).

- LINDNER, J., H. A. v. SCHWEINITZ u. G. FREYTAG: Fermenthistochemische Untersuchungen an lebenden Zellen. *Acta histochem. (Jena)* **8**, 478—489 (1959).
- — — Reaktionsformen von Kollagenfasern (I). *Acta histochem. (Jena)* **9**, 231—246 (1960).
- MERKEL, H.: Diagnostische Feststellungsmöglichkeiten bei verbrannten und verkohlten menschlichen Leichen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **18**, 232—249 (1932).
- NANIKAWA, R., u. W. JANSSEN: Über das postmortale Verhalten der Succinodhydrogenase-Aktivität in Geweben und Leukocyten. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **56**, 44—56 (1965).
- ÖKRÖS, S.: Gerichtlich-medizinische Bedeutung des elastischen Fasersystems der Haut. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **29**, 485—500 (1938).
- ORSOS, F.: Das Bindegewebsgerüst der Lymphknoten im normalen und pathologischen Zustand. *Beitr. path. Anat.* **75**, 15—134 (1926).
- Die vitalen Reaktionen und ihre gerichtsmedizinische Bedeutung. *Beitr. path. Anat.* **95**, 163—237 (1935).
- PANNING, G.: Die vitale Reaktion am Knochen. Jena: Gustav Fischer 1940.
- PENTMANN, J.: Der Verlauf postmortal auftretender Veränderungen der Struktur und Kontraktilität der Arterien. *Virchows Arch. path. Anat.* **259**, 666—684 (1926).
- PONSOLD, A.: Die Eindickung und Verdünnung des Blutes beim Tod durch Erstickung. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **28**, 154—162 (1937).
- PROKOP, O.: Die vitale Reaktion. In: O. PROKOP, *Lehrbuch der gerichtlichen Medizin*, S. 64—70. Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit 1960.
- RAEKALLIO, J.: Histochemical studies on vital and postmortem skin wounds. Helsinki: Mercatorin Kirjapaino 1961.
- Histochemical distinction between antemortem and postmortem skin wounds. *J. forens. Sci.* **9**, 107—118 (1964).
- RITTER, K.: Zur Frage der Vitalreaktionen an Leichen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **20**, 144—150 (1933).
- SCHALLOCK, G., u. J. LINDNER: Beitrag zur Frage der Entmischungszustände in den Grundsubstanzen des Bindegewebes. *Medizinische* **1**, 12—20 (1957).
- SCHULZ, R.: Über den Wert vitaler Zeichen bei mechanischen Verletzungen. *Vjschr. gerichtl. Med.* **12**, 44—94 (1896).
- SCHWEINITZ, H. A. v.: Mechanische und chemische Schädigungen der elastischen Fasern. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **43**, 69—75 (1959).
- STOESSEL: Die Frage der vitalen und postmortalen Reaktionen des elastischen Fasersystems der Haut. *Med. Diss. Heidelberg* 1950.
- WALCHER, K.: Studien über die Leichenfäulnis mit besonderer Berücksichtigung der Histologie derselben. *Virchows Arch. path. Anat.* **268**, 17—180 (1928).
- Zur Differentialdiagnose einiger Zeichen vitaler Reaktionen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **24**, 16—24 (1935).
- Die vitale Reaktion bei der Beurteilung des gewaltsamen Todes. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **26**, 193—211 (1936).
- WESTENHOEFER, M.: Weitere Beiträge zur Frage der Schaumorgane und der gangrène foudroyante. Cadaveröse Fettembolie der Lungencapillaren. *Virchows Arch. path. Anat.* **170**, 517—542 (1902).

Prof. Dr. med. J. LINDNER
 Pathologisches Institut U.K.E.
 2 Hamburg 20, Martinistraße 52