

Die Initialphase der Muskelnekrose nach Schnittverletzung und ihr Identifizieren als vital im quergestreiften menschlichen Muskel*

KARI OJALA und MATTI LEMPINEN

Institut für gerichtliche Medizin der Universität Helsinki
(Vorsteher: Prof. Dr. med. UNTO UOTILA)

II. Chirurgische Klinik des Universitäts-Zentralkrankenhauses Helsinki
(Vorsteher: Prof. Dr. med. MARTTI TURUNEN)

Eingegangen am 23. Februar 1968

Die Regeneration des Muskelgewebes nach Myopathien, Trauma und Devascularisation ist ausgiebig untersucht worden (s. z. B. ADAMS et al., 1953; GODMAN, 1957; LE GROS CLARK, 1946; FIELD, 1960; ENGEL, 1965). In neuesten Arbeiten ist nachgewiesen worden, daß sich die Muskelfasern nicht durch mitotische Zellteilung regenerieren, und eine neue Theorie über die Translokation der Muskelfasern-Zellkerne ist dargestellt worden (PAULING WRIGHT, 1963). Andererseits sind einige E/M-Beobachtungen betreffs der Bedeutung der sog. Satellitenzellen in Verbindung mit der Regeneration gemacht worden (MAURO, 1961; CHURCH et al., 1966).

In einer experimentellen Arbeit beobachteten LASH et al. (1957) in Zusammenhang mit Schnittverletzung nach 6 Std im Blutcoagulum Leukocyten, Histiocyten sowie Fibroblasten. Im Flügelmuskel der Fledermaus wurden als Folge von Prellverletzung zwischen den Muskelfasern innerhalb von 2 Std Leukocyteninfiltration sowie innerhalb von 3 Std Histiocyten im geschädigten Bereich wahrgenommen.

Anoxie bewirkt Herabgehen der Bernsteinsäuredehydrogenase in Verbindung mit Herzinfarkt (WACHSTEIN und MEISEL, 1955). FINE et al. (1966) und MORALES und FINE (1966) haben bei experimenteller, der Ratte zugefügter Coronarokklusion, sowie in humanem Material Abnahme der Dehydrogenasen wahrgenommen, und zwar zeigte β -Buttersäuredehydrogenase die schnellste Reaktion. Andererseits hat VOIGT (1967) in menschlichem Material und in Paraffinschnitten bei der PTAH-Färbung die Metachromasie als gutes und zuverlässiges Verfahren zur Diagnose des Herzinfarkts nachgewiesen.

Im Zusammenhang mit der Vitalreaktion erachtete WALCHER (1930, 1936) Leukocytose und Bindegewebe proliferation als bestes Zeichen der Vitalität. Im Blutcoagulum festgestelltes Fibrin bestätigt nicht allein, daß eine vitale Verletzung vorliegt, und sein Fehlen ist seinerseits kein Zeichen ihrer Postmortalität (LAIHO, 1967).

* Die vorliegende Arbeit ist teilweise finanziert worden mit Mitteln von der Sigrid-Juselius-Stiftung, Helsinki, Finnland.

In der quergestreiften Rückenmuskulatur des Meerschweinchens stellt man nach Durchschneiden der Fasern nach 30 min Leukocyteninfiltration fest, sowie Fibroblastenproliferation in Verletzungen von 2—4 Std Alter (OJALA, 1968). Nach einer Prellwunde sind im Subscapularfett des Meerschweinchens die entsprechenden Reaktionen sogar noch schneller (HIRVONEN, 1968). Da z. B. die Atmungsfrequenz des Meerschweinchens etwa 2—3fach und seine Wärmeezeugung etwa 3fach im Vergleich zu denjenigen des Menschen sind (s. GAUTHIER und PADYKULA, 1966), ist eine Untersuchung dessen zweckmäßig, wie der quergestreifte Muskel des Menschen nach einer Schnittverletzung unter experimentellen Verhältnissen reagiert.

Material und Methoden

Die Laparotomien in der vorliegenden Untersuchung fanden meistens wegen Cholecystektomie oder Magenresektion statt. Neben dem oberen Medialeinschnitt (mit gespaltener Rectusscheide) wurde 5 cm kopfwärts vom Nabel und in 2 cm Entfernung von der Linea alba mit der Schere eine Wunde von etwa 1 cm Länge senkrecht zu den Muskelfasern verursacht. Freier Bluterguß von der Wunde wurde zugelassen. Sämtliche Operationen erfolgten unter mit Barbituraten eingeleiteter kombinierter und kontrollierter Anaesthetie mit Verwendung von Muskelrelaxantien in Verbindung mit Lachgas und Sauerstoff. Alle Patienten waren in verhältnismäßig gutem Zustand, und außer der Operationsursache litten sie an keiner besonderen, z. B. allgemeinen systematischen Krankheit.

Die Patienten waren beiderlei Geschlechts, mit einem Durchschnittsalter von 46 Jahren; der jüngste und älteste unter ihnen waren 21 bzw. 75 Jahre alt. Die Proben wurden 5 min bis 2 Std nach Durchschneiden des Muskels entnommen und durften auf einem Papierblatt einige Minuten eintrocknen. Anschließend wurden sie in 10%igem Formalin fixiert.

Die Proben wurden nach erfolgtem Dehydrieren in Paraffin eingebettet und zu Schnitten von 5—6 cm Dicke verarbeitet. Diese wurden mit HEIDENHAIN'S Eisenhämatoxylin (HH), Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin (PTAH), Hämatoxylin-Eosin (HE), nach VAN GIESON'S Verfahren (vG) und nach MAY-GRÜNWALD-GIEMSA (MGG) gefärbt.

Die Proben wiesen folgende Verteilung auf: 5 min-Wunden — 3 Proben, 10 min — 6, 20—30 min — 5, 35—45 min — 4 sowie 1—2 Std — 6; insgesamt 24 Proben.

Ergebnisse

In sämtlichen Wunden war Retraktion der Muskelfasern zu sehen. Die Retraktionskappenbildungen fanden sich an den Enden der Fasern, an deren Schnittfläche, in jungen Wunden von weniger als 1 Std Alter (Abb. 1). Bei älteren Wunden waren solche Bildungen auch in den peripheren Teilen der Fasern zu sehen. Retraktionsknoten und -bänder wurden in reicher Zahl in mehr als 30 min alten Wunden wahrgenommen. Die lädierten Muskelfasern zeigten metachromatische Färbung; dies war deutlich schon bei den 5 min-Wunden feststellbar. Hyaline Degeneration — Verschwinden der Quer- und Längsstreifung der Muskelfasern — offenbarte sich in den peripheren Teilen der Fasern in den älteren Wunden; diese Veränderung trat nicht mit deutlicher Begrenzung auf, sondern

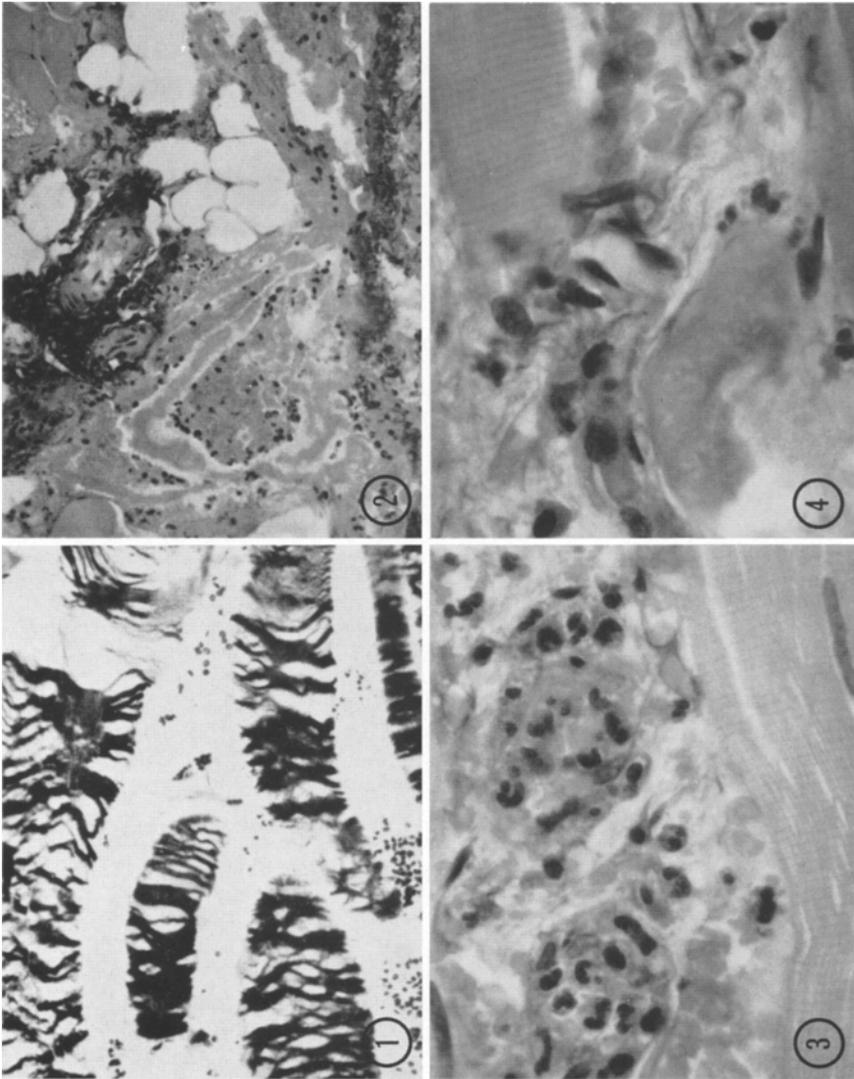


Abb. 1. 5 min alte Wunde. Einige Erythrocyten liegen zwischen den Fasern zur Sicht, sowie in den Muskelfasern Retraktionsbänder in reicher Zahl; ferner einige Retraktionsknoten. HEIDENHAIN'S Eisen-Hämatoxylin, Vergr. etwa $360\times$

Abb. 2. 35 min alte Wunde. Blutcoagulum mit nebeneinander angeordneten Leukocyten, die Stränge bilden. Einige Leukocyten an den Rändern der Muskelfasern, die nekrotisch sind und ihre Querstreifung verloren haben. VAN GIESON, Vergr. etwa $160\times$

es kamen hier und da homogene Fasern zwischen intakten Fasern vor. Vacuoläre Degeneration wurde erst bei Wunden von mehr als 30 min Alter beobachtet, und zwar schien sie sich dann eng mit der Bindung von Retraktionsbändern zu verknüpfen, denen die Vacuolen nahe lagen. Fernerhin wurden Vacuolen unter dem Sarkolemma homogener Fasern gesehen.

In Wunden von mehr als 30 min Alter wurde Fragmentation der Fasern an den Rändern der Retraktionskappen wahrgenommen, aber bei Wunden, die etwa 1 Std alt oder älter waren, konnte die Begrenzung nicht immer vollends identifiziert werden.

Blutung wurde in allen Wunden festgestellt, und unter den Erythrocyten fanden sich hier und da Leukocyten. In den Wunden von 20—30 min Alter wurden Leukocyten in kleinen Gruppen sowie an einigen Stellen am Rande der geschädigten Fasern beobachtet (Abb. 2). Zugleich waren in den peripheren Teilen der Wunde intravasculäre Thrombenbildungen zu sehen. In den Capillaren waren aus Leukocyten bestehende Thromben wahrzunehmen, wogegen in etwas größeren Gefäßen an den Wandungen anhaftende Leukocyten sowie Fibrin und Erythrocyten zu sehen waren. Im allgemeinen wurden Thromben in dem Bereich festgestellt, in welchem die Muskelfasern intakt erschienen. Das Blutungsgebiet hatte sich ausgedehnt, indem Blut von der Wundfläche zwischen die Fasern eingedrungen war.

In den Wunden von 35 min Alter und darüber wurden zwischen den Muskelfasern Entzündungszellen wahrgenommen (Abb. 3). Die ersten Makrophagen und Gewebehistiocyten, die in das nekrotische Gebiet gewandert waren, wurden in den 45 min-Wunden erkannt; in den älteren waren sie regelmäßig zu beobachten (Abb. 4).

Bindegewebeproliferation konnte in keiner der Wunden mit Sicherheit festgestellt werden.

Eingehendere Einzelheiten der Ergebnisse und die zum Nachweis der verschiedenen Erscheinungen jeweils am besten geeigneten Färbungen sind in der Tabelle angeführt.

Abb. 3. 1 Std alte Wunde. Aufnahme vom peripheren Teil der Verletzung, wo im Blutgefäß ein Leukocytenthrombus feststellbar ist und einige extravasculäre Entzündungszellen sowie Makrophagen sichtbar sind. Hämatoxylin-Eosin,

Vergr. etwa 360×

Abb. 4. 1 Std alte Wunde. Am linken Rande der Aufnahme eine Histiocytzelle, unten 2 Makrophagen und mitten im Bild einige unreife Zellen, eventuell künftige Histiocyten oder Fibroblasten. VAN GIESON, Vergr. etwa 360×

Tabelle. *Mikroskopische Funde bei einer den menschlichen M. rectus abdominis schneidenden Verletzung, mit Angabe der am besten geeigneten Färbungsverfahren*

Reaktion der Fasern	Alter der Verletzung					Bestes Färbungsverfahren
	5 min	10 min	20 bis 30 min	35 bis 45 min	1 bis 2 Std	
Retraktion	+	+	+	+	+	PTAH, H1H
Retraktionskappe usw.	+	+	+	+	+	PTAH, H1H
Metachromasie	+	+	+	+	+	PTAH
Hyaline Degeneration	+	+	+	+	+	PTAH, vG, HE
Vacuolendegeneration	-	-	-	+	+	PTAH, (H1H)
Blutungs- und entzündungsbedingte Veränderungen:						
Blutung	+	+	+	+	+	PTAH, HE
Fibrin	+	+	+	+	+	PTAH
Leukocyten mit fragm. Zellkern	-	-	+	+	+	HE, vG, MGG
Makrophagen	-	-	-	±	+	HE, vG, MGG
Histiocyten	-	-	-	±	+	HE, vG, MGG
Thromben	-	-	+	+	+	HE, PTAH
Rundzellen	-	-	-	-	-	

-- = Negativ, ± = nur wenige Zellen; + = positiver Fund.

HE = Hämatoxylin-Eosin, H1H = Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. MGG = Färbung nach MAY-GRÜNWARD-GIEMSA, PTAH = Phosphorwolframsäure-Hämtoxylin nach MALLORY, vG = van Giesonsche Färbung.

Besprechung

SPEIDEL (1938) zeigte, daß fast jede hinreichend starke Reizung in der Muskelfaser Retraktionskappen, -knoten und -bänder hervorruft; fernerhin war die Bildung dieser nicht von der Innervation der Muskelfaser abhängig. Die Todesstarre ist ein sekundäres oder sicheres Todeszeichen, d. h. man kann nach ihrem Eintreten den Muskel nicht mehr z. B. durch elektrischen Reiz zur Kontraktion veranlassen. Das Eintreten der Todesstarre ist von einer Zahl von Faktoren bedingt. „Alkalische Todesstarre“ stellt sich rasch ein, während es dagegen in einigen Sonderfällen mehrere Stunden, sogar länger als 20 Std dauern kann, bis sich Todesstarre ergibt (TAYLOR, 1910). Im Meerschweinchenmuskel wurden nach Schnittverletzungen noch in postmortalen Versuchen nach 1 Std Retraktionskappen, -knoten und -bänder wahrgenommen (OJALA, 1968). Die im quergestreiften Muskel des Meerschweinchen und des Menschen festgestellten Veränderungen waren gleicher Art, obwohl die Fasern des menschlichen Muskels größer und ihre Veränderungen einigermaßen deutlicher waren. Auf Grund des erstgenannten Umstands dürfte man die Reaktionen der Muskelfasern im Hinblick auf den gesamten Organismus schwerlich als vital erachten können. Das Vorhandensein dieser

Veränderungen ist ein Zeichen dessen, daß die Verletzung vor Eintritt der Todesstarre zugefügt wurde, jedoch können die Veränderungen der Fasern dem geübten Prüfer Hinweise betreffs der Entstehungszeit der Verletzung mit Rücksicht auf die Vitalreaktion geben.

Da zuvor (SPEIDEL, 1938) nachgewiesen worden ist, daß die Reaktionen des Muskels von der Innervation der Muskelfasern unabhängig sind, sollten die Anaesthetie und die benutzten Muskelrelaxationsmittel keinen Einfluß auf die in den Muskelfasern wahrgenommenen degenerativen bzw. nekrotischen Veränderungen ausüben.

RAEKALLIO (1961) beobachtete in Hautverletzungen bei Meerschweinchen Leukocyten außerhalb der Blutgefäße erst 4—8 Std nach Zufügen der Verletzung, und er führte die enzym-histochemischen Verfahren in der gerichtsmedizinisch wichtigen Untersuchung der Vitalreaktion ein. Hiermit konnte er die Verzugsphase („lag“) bei der Haut auf etwa 1 Std verkürzen. SPEIDEL (1938, 1939) gibt in seinen umfangreichen Untersuchungen mit mehreren Tierarten den Zeitpunkt des Erscheinens von Leukocytose im Anfangsstadium der Muskelnekrose nicht näher an; CHURCH et al. (1966) hingegen beobachteten Leukocytose im Verlauf der ersten 2 Std.

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig Leukocyteninfiltration in Wunden von 20—30 min Alter und Histiocyten sowie Makrophagen in solchen von 35—45 min Alter wahrgenommen. Im quergestreiften Meerschweinchenmuskel bewirkte Schnittverletzung Leukocyteninfiltration innerhalb etwa 30 min, und die ersten Histiocyten und Makrophagen wurden in Wunden im Alter von 1 Std beobachtet (OJALA, 1968). Die Entzündungsreaktion stellte sich somit innerhalb der gleichen Zeitgrenzen ein, woraus man den Eindruck gewinnt, daß der Unterschied im Stoffwechsel zwischen Mensch und Meerschweinchen im Entstehen der Entzündungsreaktion keine Rolle spielen würde.

Histochemische Verfahren sind nicht unbedingt beim Untersuchen der Vitalreaktion des Muskels notwendig, wenngleich man mit deren Hilfe rascher zu Ergebnissen gelangen kann. Andererseits kann man beim Untersuchen von Gewebe, in dem sich Autolyse abspielt, mit Hilfe der sauren und alkalischen Phosphatase die Beurteilung bessern und sicherstellen (HIRVONEN, 1968; OJALA, 1968). Die schnellere Entzündungsreaktion beim Muskel im Vergleich mit derjenigen der Haut dürfte wenigstens teilweise auf die beträchtlich reichlichere Vascularisation des Muskelgewebes zurückzuführen sein (GERSCH und STILL, 1945).

Zusammenfassung

In Verbindung mit Laparotomien wurde eine Wunde von etwa 1 cm Länge verursacht, welche die Fasern des menschlichen *M. rectus*

abdominis durchschnitten. Die Versuchspersonen befanden sich während der Operation in kombinierter Narkose.

Mittels histologischer Verfahren wurden polymorphkernige Leukozyten an den Rändern der lädierten Muskelfasern erstmalig in Wunden von 20 min Alter wahrgenommen; zu gleicher Zeit hatten sich in den Blutgefäßen Leukocyenthromben gebildet. Makrophagen und Histiocyten waren in Wunden von 45 min Alter und darüber an den Rändern der nekrotischen Fasern zu sehen.

Entzündungsreaktion stellte sich im quergestreiften Muskel des Menschen zu gleicher Zeit wie auch beim Meerschweinchen ein.

Von der Retraktion der Muskelfasern herrührende morphologische Veränderungen konnten nicht allein als Zeichen der Vitalität des gesamten Organismus erachtet werden. Die von vorhandener Blutzirkulation hervorgerufene Entzündungsreaktion wurde als erstes sicheres Zeichen der Vitalität erachtet.

Summary

In connection with laparotomies an incision about 1 cm in length and severing the fibres of the human rectus abdominis muscle was made. The experimental subjects were in combined narcosis during the operation.

Histological methods revealed polymorphonuclear leukocytes on the margins of the injured muscle fibres for the first time in wounds of 20 minutes' age; at the same time leukocyte plugs had formed in the blood vessels. Macrophages and histiocytes could be seen in wounds aged 45 minutes and older on the marging of the necrotic fibres.

Inflammation reaction became manifest in the human striated muscle after the same time as in the guinea-pig.

Morphological changes due to retraction of muscle fibres could not alone be considered a sign of the vitality of the organism as a whole. Inflammation reaction produced by existing circulation was considered to be the first positive sign of vitality.

Literatur

- ADAMS, R. D., D. DENNY-BROWN, and C. M. PEARSON: Diseases of muscle. London: Cassel 1953.
- CHURCH, J. C. T., R. F. X., NORONHA, and D. B. ALLBROOK.: Satellite cells and skeletal muscle regeneration. *Brit. J. Surg.* **53**, 638 (1966).
- ENGEL, W. K.: Diseases of neuromuscular junction and muscle. *Neurohistochemistry*. Edit. by C. W. M. ADAMS p. 622 Amsterdam-London-New York: Elsevier Publ. Co. 1965.
- FIELD, E. J.: Muscle regeneration and repair. Structure and function of muscle. Edit. by G. H. BOURNE, 1960 vol. III, p. 139. New York and London: Academic Press.

- FINE, G., A. MORALES, and J.R. SCERPELLA: Experimental myocardial infarction. *Arch. Path.* **82**, 4 (1966).
- GAUTHIER, G.F., and H. A. PADYKULA: Cytological studies of fiber types in skeletal muscle. *J. Cell Biol.* **28**, 333 (1966).
- GERSCH, I., and M.A. STILL: Blood vessels in fat tissue. Relation to problems of gas exchange. *J. exp. Med.* **81**, 219 (1945).
- GODMAN, G.C.: On the regeneration and redifferentiation of mammalian striated muscle. *J. Morph.* **100**, 27 (1957).
- HIRVONEN, J.: Histochemical studies on vital reaction and traumatic fat necrosis in the interscapular adipose tissue of adult guinea pig. *Ann. Acad. Sci. fenn. A 5*, **136**, 1 (1968).
- LAIHO, K.: Immunohistochemical studies on fibrin in vital and postmortem subcutaneous haemorrhages. *Ann. Acad. Sci. fenn. A 5*, **128**, 1 (1967).
- LASH, J.W., H. HOLTZER, and H. SWIFT: Regeneration of mature skeletal muscle. *Anat. Rec.* **128**, 679 (1957).
- LE GROS CLARK, W.E.: An experimental study of regeneration of mammalian striped muscle. *J. Anat. (Lond.)* **80**, 24 (1946).
- MAURO, A.: Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 493 (1961).
- MORALES, A.R., and G. FINE: Early human myocardial infarction. *Arch. Path.* **82**, 9 (1966).
- OJALA, K.: On vital reaction of muscle wound. Morphological and histochemical study in guinea pig. *Ann. Acad. Sci. fenn. A 5*, **137**, 1 (1968).
- PAULING WRIGHT, G.: Cellular reactions to injurious agents as seen in muscle. Research in muscular dystrophy. The Proceedings of the Second Symposium, January 1963, p. 63. London: Pitman Medical Publ. Co. Ltd. 1963.
- RAEKALLIO, J.: Histochemical studies on vital and postmortem skin wounds. *Ann. Med. exp. Fenn.* **39**, Suppl. 6 (1961).
- SPEIDEL, C.C.: Studies of living muscles. I. Growth, injury and repair of striated muscle, as revealed by prolonged observations of individual fibers in living frog tadpoles. *Amer. J. Anat.* **62**, 179 (1938).
- Studies of living muscles. II. Histological changes in single fibers of striated muscle during contraction and clotting. *Amer. J. Anat.* **65**, 471 (1939).
- TAYLOR, A.S. (1910). Ref. BENDALL, J.R.: Post mortem changes in muscle. Structure and function of muscle. Edit. by G.H. BOURNE, vol. III, p. 227. New York and London: Academic Press 1960.
- VOIGT, G.E.: Zur Diagnostik frischer Myocardläsionen. *Diese Z.* **59**, 113 (1967).
- WACHSTEIN, M., and E. MEISEL: Succinic dehydrogenase activity in myocardial infarction and in induced myocardial necrosis. *Amer. J. Path.* **31**, 353 (1955).
- WALCHER, K.: Über vitale Reaktionen. *Diese Z.* **15**, 16 (1930).
- Die vitalen Reaktionen bei der Beurteilung des gewaltsamen Todes. *Diese Z.* **26**, 193 (1936).

Dr. KARI OJALA
Institut für gerichtliche Medizin
der Universität Helsinki
Snellmaninkatu 10, Helsinki 17