

## Ein Sekundenphänomen der vitalen Reaktion, demonstriert an Stichverletzungen von Arterien

EKKEHARDT BÖHM und MILKO TSCHOMAKOV\*

Institut für Rechtsmedizin der Universität München (BRD)

Eingegangen am 17. Juli 1972

### *Phenomenon during Seconds of Vital Reaction shown by Cut lesions of arteries*

*Summary.* Experimental examinations by a Scanning Electron Microscope on cut arteries. We compared ante with postmortal changes and had serious different reactions. We observed typical aggregation of Fibrin, Thrombocyts and Erythrocyts 3—5 sec after injury. This method gives way for shortening detectable vital reactions to a few seconds before the blood circulation stops. We discuss the practical applicability to different traumas in legal medicine.

*Zusammenfassung.* Experimentelle Untersuchungen an Stichverletzungen von Arterien mit einem Rasterelektronenmikroskop. Ante- und postmortale Verletzungen wurden verglichen, sie waren eindeutig zu differenzieren. Typische Abscheidungen und Aggregationen von Thrombocyten, Fibrin und Erythrocyten zeigten sich schon 3—5 sec nach Setzung der Läsion. Die Methode erlaubt eine drastische Verkürzung des Zeitraumes für die Bestimmbarkeit einer vitalen Reaktion (wenige Sekunden vor dem Stillstand des Blutkreislaufes). Die voraussichtliche praktische Anwendbarkeit auf die verschiedenen Traumatisierungsarten in der gerichtlichen Medizin wird kurz besprochen.

*Key words:* Vitale Reaktionen, ein Sekundenphänomen — Thrombocytenaggregationen, vitale Reaktion.

Die bisher für die Diagnose der vitalen Reaktion angewandten Methoden der Histochemie lassen eine zeitliche Abgrenzung vital/postmortal nur bis zu einem Zeitraum von günstigenfalls ca. 20—30 min prä mortal zu (Raekallio, 1960, 1970, 1971/72; Fatteh, 1966; Pioch, 1963, 1966, 1969; Friebe l u. Woohsmann, 1968; Hou-Jensen, 1969; Nadvornik *et al.*, 1971; u. a.).

Bei biochemischen Untersuchungen der Strangfurche haben Fazekas u. Viragos-Kis die erhebliche Erhöhung des freien Histamins als frühe vitale Reaktion bezeichnet (1965). Raekallio u. Mäkinen (1970) fanden bei Untersuchung von Verletzungen der Haut ein Maximum des Anstiegs an freiem Histamin und Serotonin 20 bzw. 10 min nach Setzung der Läsion. Berg *et al.* bestimmten eine Erhöhung der Enzymaktivität im Bereich von Hautverletzungen bereits 2 min p.l., das Maximum war nach 1—2 Std erreicht. Berg bestätigte die Befunde von Fazekas hinsichtlich der Gegebenheiten in der Strangfurche. Die Literatur über die frühesten histologischen Merkmale einer vitalen Reaktion (Leukocytenmigration) sind außerordentlich different und umfassen einen Zeitraum von 45—60 min bis zu 12—18 Std. Prokop (1960) gibt als Beginn der Leukocytenreaktion (Randstellung) frühestens 10 min an.

\* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, Sonderforschungsbereich 51 (Medizinische Molekularbiologie und Biochemie).

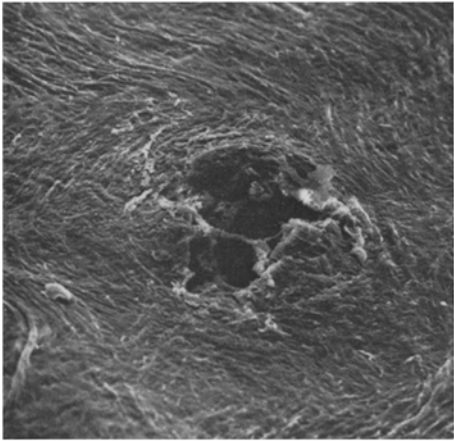


Abb. 1



Abb. 2

Abb. 1. Postmortaler Einstich tierexperimentell: Gewebsetsen aus der Media der Aorta (Bindegewebs-Faserbündel), außerdem Zersetzung des Endothels

Abb. 2. 5 sec-Präparat der Aorta: Bereits bei schwacher Vergrößerung erkennbare Auflagerungen auf dem Endothel, Stichkanal bereits teilweise verlegt

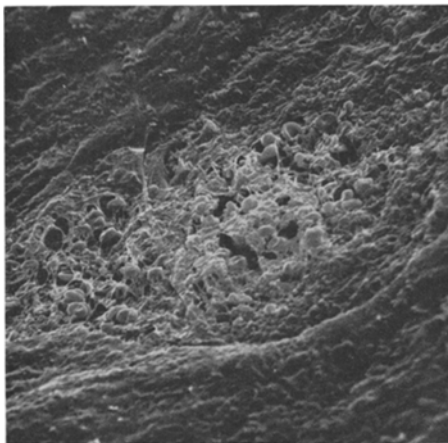


Abb. 3

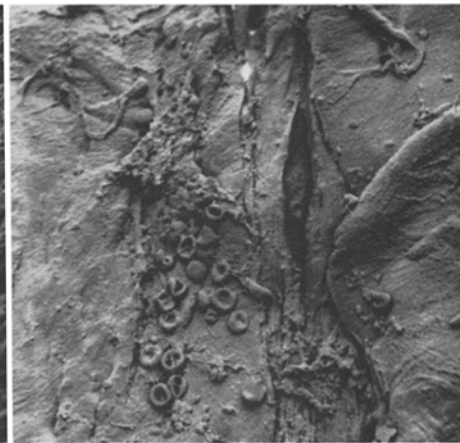


Abb. 4

Abb. 3. 5 min-Präparat. Thrombocytenrasen auf dem Endothel. Völlige Verlegung des Stichkanals durch Fibrinnetze, Thrombocyten und Einschluß von Erythrocyten

Abb. 4. Aortenruptur — Todeseintritt durch Verbluten: Tierexperimentell: Dichte Thrombocytenaggregate, netzförmige Fibrinabscheidungen mit eingeschlossenen Erythrocyten

Sichere Zeichen einer vitalen Reaktion sind nach Mueller örtliche Entzündungserscheinungen und Thrombose. Lindner, der ebenfalls über Wundheilung und vitale Reaktion ausführlich berichtet, ordnet die Thrombose den mittelbaren Folgen einer Traumatisierung zu.

Frost veröffentlichte 1971 Strukturen auf der Innenfläche der *A. carotis* eines Kaninchens 20 min nach Punktion dieses Gefäßes mit einer Injektionskanüle. Die mit einem Rasterelektronenmikroskop erhobenen Befunde bestanden in Erythrocyten, flächenhaften Belägen von Thrombocyten und Fibrinstrukturen. Nach diesem Ergebnis war zu vermuten, daß sich der bisher bekannte früheste Zeitpunkt für die Feststellbarkeit einer vitalen Reaktion insbesondere an GefäßEinstichstellen erheblich verkürzen lassen müßte. Wir rechneten zunächst mit einem Zeitraum von Minuten, führten aber bereits in der ersten Versuchsserie 5 sec-Präparate mit und erzielten überraschende Ergebnisse.

### Material und Methode

An narkotisierten Kaninchen und Albinoratten wurde die Aorta präparatorisch dargestellt. Ca. 3 mm entfernt voneinander wurden gleichzeitig mehrere Einstiche mit einer Injektionskanüle (Nr. 16) gesetzt. Proximal der Einstichstellen wurde jeweils eine Ligatur vorbereitet, die nach 3—5, 15, 30 und 60 sec sowie 5, 10, 15, 20, 30 und 60 min nach dem Setzen des Einstiches zugezogen wurde. Darauf wurden die Gefäßabschnitte mit 3,5%iger Natriumcitratlösung durchspült, mit einer abgewinkelten Doppelklemme (Präparation nach Frost) gefaßt, proximal und distal durchtrennt, gegenüber der Einstichseite mit einer feinen Coronarschere der Länge nach aufgeschnitten, mit physiologischer NaCl-Lösung abgespült und unter mäßiger Dehnung mit Nickelnadeln auf Korkscheiben von ca.  $3 \times 1$  cm Größe aufgespannt. Die Fixierung erfolgte mit 3,25%-iger Glutaraldehydlösung bei pH 7,2 (Phosphatpuffer) im Kühlschrank ( $+4^{\circ}\text{C}$ ).

Der menschlichen Leiche entnommene Gefäße mit Injektionsstellen (*A. femoralis* und *A. carotis*) wurden in prinzipiell gleicher Weise präpariert, lediglich erfolgte eine mehrmalige Waschung in physiologischer Kochsalzlösung (bei  $+4^{\circ}\text{C}$ ) vor der Fixierung. Die Dehydrierung

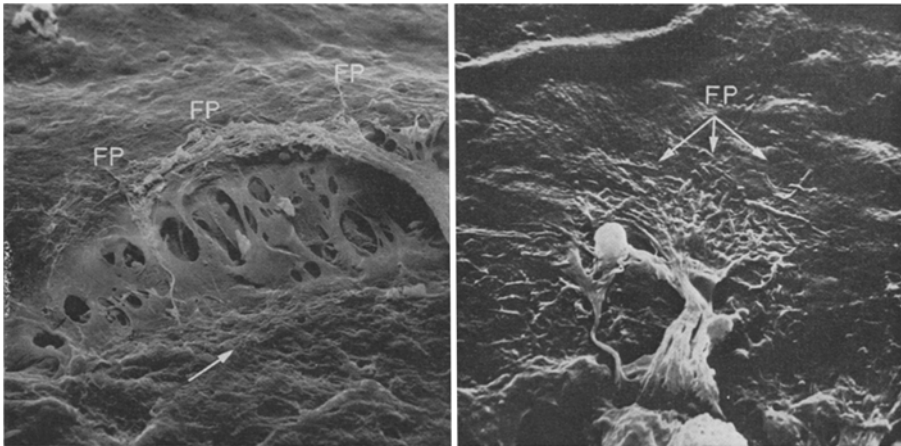


Abb. 5

Abb. 6

Abb. 5. Schräg verlaufender Stichkanal: *A. femoralis*, Mensch (Obduktionspräparat). Zeitpunkt der Injektion ante mortem nicht aufklärbar. Dem Befund nach mehr als 20 min. Gebündelte Fibrinfasern verlaufen brückenförmig von Wundrand zu Wundrand. Besonders hervorzuheben: Ausgedehnte Verankerung des Fibrinfasernetzwerkes auf dem Endothel (*FP*). Pfeil in Blutstromrichtung

Abb. 6. Detail aus dem vorherigen Bild: Einbeziehung der Fibrinfasern in die Endotheloberfläche: Haftpunkte des brückenförmigen Fasersystems aus Abb. 5 (*FP*)

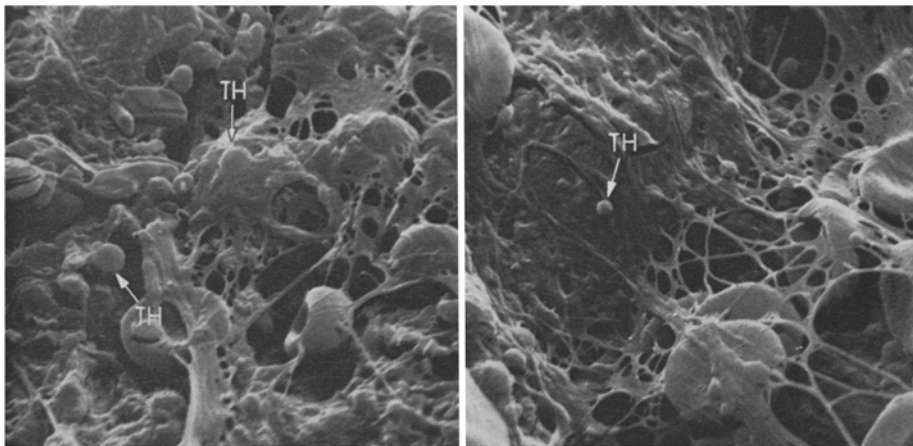


Abb. 7

Abb. 8

Abb. 7. Frische (5 sec-Präparat) netzförmige und gebündelte Fibrinausscheidungen mit vorwiegend runden bis leicht ovalen Thrombocyten (TH)

Abb. 8. Ausbildung von dichteren Fibrinbelägen mit eingeschlossenen Thrombocyten. Anlagerung von Fibrinmizellen und Mizellbündeln: Thrombocyten als Gerinnungszentren. Thrombocyten teilweise mit angedeuteter Pseudopodienbildung

erfolgte aus verschiedenen Gründen in 2 Stufen (50—100%) über Aceton (+4°C). Zum Aufsuchen der Injektionsstellen wurden die Präparate mit Stereolupe und Auflichtmikroskop untersucht, die betreffenden Regionen mit der Rasierklinge unter Sicht mit der Stereolupe ausgeschnitten, mit UHU-hart auf Probenträger montiert, in üblicher Weise mit Kohlenstoff und Gold bedampft und in einem Rasterelektronenmikroskop (Stereoscan der Fa. Cambridge) untersucht.

Zur Kontrolle (Blindversuch) wurden in gleicher Weise wie zuvor beschrieben in die präparatorisch freigelegten Carotiden sowie in die Aorta abdominalis von Kaninchen und in die Aorta von Albinoratten mit einer Kanüle Einstiche gesetzt, und zwar erstens sofort nach Unterbindung der Blutzufuhr und sofort nach Töten der Versuchstiere durch Veräthern und zweitens nach 5, 10 und 15 min nach dem Todeseintritt. Die Lagerungszeit der postmortal gesetzten Einstiche *in situ* betrug 5 sec sowie 5, 10, 20, 30 und 60 min. Nach diesen Lagerungszeiten erfolgte Durchspülung der Gefäße mit Citrat- und Kochsalzlösung in der beschriebenen Weise sowie die weitere präparatorische Vorbereitung in der beschriebenen Technik (Glutaraldehyd-Fixation/Dehydrierung mit Aceton).

### Ergebnisse

Bereits 3 bis 5 sec vor Unterbrechung der Blutzirkulation fanden wir Thrombocytenansammlungen auf der Endotheloberfläche in der Nähe des Stichkanals sowie ausgedehnte Fibrinnetze. Die Gestalt der Thrombocyten war teilweise rund, teilweise angedeutet polygonal abgeflacht. Die Vernetzung der Fibrinfäden erfolgte in typischer Weise unter Einbeziehung von Thrombocyten in Vernetzungszentren — wie bereits aus durchstrahlungselektronenmikroskopischen Abbildungen bekannt. Die Topographie dieser Veränderungen ergibt sich aus den Aufnahmen — das Muster der Veränderungen ist ausgesprochen typisch. Die Arkadenformation der Fibrinfäden zeigt eine eindeutige Beziehung zur Blutstromrichtung.

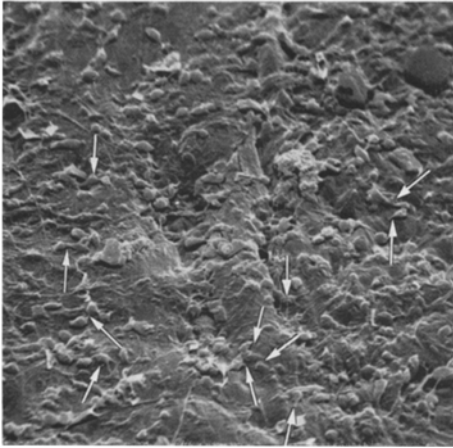


Abb. 9

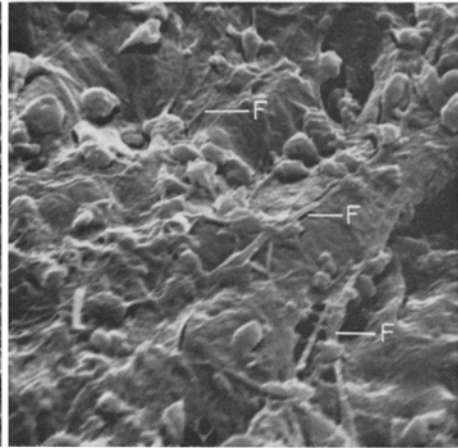


Abb. 10

Abb. 9. Relativ dichter Thrombocytenrasen auf der Endotheloberfläche außerhalb des Stichkanals: 5 min-Präparat. Deutliche Pseudopodienbildung der Thrombocyten (Pfeile), fädige Fibrinnetze, die das Endothel überziehen

Abb. 10. Stärkere Vergrößerung des gleichen Bezirkes wie Abb. 9: Thrombocyten als Gerinnungszentren, angenähert halbkugelige, stellenweise teller- bis spindelförmige Gestalt der Thrombocyten. Deutlich erkennbare Fibrinnetze (*F*)

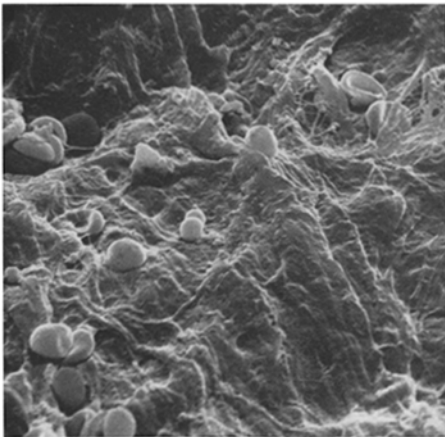


Abb. 11

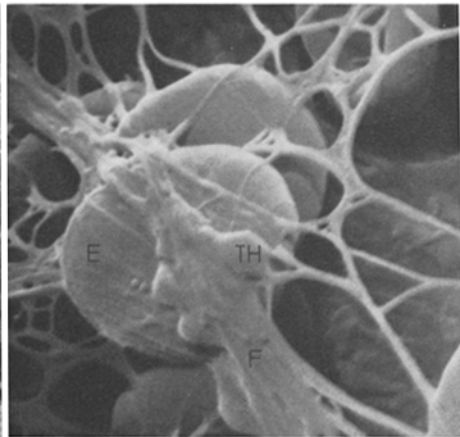


Abb. 12

Abb. 11. Kugelform der Thrombocyten, feine Fibrinmizellen in Netzform: 15 sec-Präparat (Endothel am Rand des Stichkanals)

Abb. 12. Detail aus Abb. 8: Von Fibrinfasernetzen (*F*) mit Thrombocyten (*TH*) als Gerinnungszentren eingeschlossene Erythrocyten (*E*). Besonders hervorzuheben ist die Bündelung der Fibrinmizellen im Bereich der Thrombocyten. 5 min-Präparat

Die 5 min-Präparate wiesen prinzipiell gleiche Befunde auf, die Fibrinnetze waren jedoch wesentlich dichter, kompakter, die Thrombocyten stärker defor-

miert und wesentlich zahlreicher. Besonders hervorzuheben ist noch die Anwesenheit von Erythrocyten in den Fibrinnetzen.

Nach 10, 15 und 20 min zeigte sich eine starke Ausbreitung der Fibrinschicht, die bei 15 und 20 min die ganze Präparatoberfläche (ca.  $3 \times 4$  mm) bedeckte. Die Fibrinfasern waren zu kompakten Faserbündeln zusammengefügt, die Orientierung der Bündel entsprach der Längsachse des Gefäßes.

Postmortal gesetzte Einstichstellen wiesen keine Thrombocytenaggregationen auf, nur selten einige Fibrinfäden, deren Strukturverknüpfung und Gesamtorientierung völlig different von den vitalen Veränderungen war. Auch die Gesamtkomposition bereits bei dem 5 sec-Präparat war eindeutig different von den postmortal gesetzten Läsionen. Insbesondere fehlte jeder Bezug der Veränderungen, wie er zwischen Thrombocyten, Fibrin und Endothel, weniger den Erythrocyten, in charakteristischer Weise bei den vitalen Läsionen ausgebildet ist. Es war auch vom theoretischen Standpunkt aus zu erwarten, daß die durch die Strömungsdynamik des Blutes nach Traumatisierung in Gang gesetzte Wechselwirkung zwischen Thrombocyten, Endothel und Fibrin zu einer anderen Strukturvermaschung führen muß als die postmortale ohne Blutströmung.

### Diskussion und abschließende Bemerkungen

Es ist unserer Meinung nach zu erwarten, daß die hier benutzte Methode für die Feststellung der vitalen Reaktion bei den meisten Formen der traumatischen Schädigung von Gefäßen außerordentliche Bedeutung erlangen kann. Besonders herausstellen möchten wir folgende Verletzungsarten, deren vitale Entstehung wahrscheinlich eindeutig zu klären ist: Endothel- und Intimaläsionen bei Erwürgen, Erdrosseln und Erhängen (A. carotis-Region), Schädel-Hirn-Traumen, Schuß-, Stich- und Hiebwunden mit Gefäßverletzungen sowie elektrische Verletzungen (Intimauntersuchung der proximalen Gefäße).

Wichtig erscheint uns besonders noch darauf hinzuweisen, daß auch unspezifische elektrische Schädigungen (170 V/1 sec — Gleichstrom: Pluspol — Minuspol frei) und Kältereize mit entsprechenden Intimaveränderungen (Thrombocytenauflagerung bzw. Thrombocytenaggregation und Fibrinabscheidungen) in typischer Weise einhergehen (Frost). Zwar ist die Reiz- bzw. Traumatisierungsreaktion zwischen Blutstrom und Endothel bzw. Gefäß unspezifisch, aber unspezifisch hinsichtlich eines besonderen Schädigungsmechanismus sind letztlich alle bekannten vitalen Reaktionen. Zum Specificum der vitalen Reaktion werden die beschriebenen Befunde erst durch den Ausschluß einer nichttraumatischen Ätiologie.

Eine Bestätigung für unsere Frühbefunde nach Arterienläsionen sehen wir in der uns nach Abschluß der Untersuchungsreihe und erster Manuskriptfassung bekanntgewordenen Publikation von Ludwig (1972). Er fand in einem völlig anderen Material, nämlich in Uterusvenen, praktisch identische zeitliche Verhältnisse hinsichtlich der Thrombusbildung. Eindeutige thrombotische Gefäßveränderungen lagen schon in Material vor, das unmittelbar nach manueller Placentallösung (Sectio) bioptisch der Uteruswand entnommen wurde. Auch Ludwig hebt die Geschwindigkeit der Ausbildung einer Fibrinapete auf der Wundfläche besonders hervor.

Eine weitere Bestätigung der sehr frühzeitigen Veränderungen (Sekundenphänomen der vitalen Reaktion) sehen wir in den eigenen Befunden an Hautschnittverletzungen, über die später berichtet werden wird.

Das maßgebende Kriterium für das Zustandekommen der von uns an arteriellen Gefäßen beobachteten vitalen Reaktionsmuster ist das Vorhandensein der Blutzirkulation. Der Begriff Vitalität ist also kardial bzw. zirkulatorisch orientiert. Unsere anfänglichen Bedenken, identische Befunde könnten in der frühen postmortalen Phase (supravital) in gleicher Weise auftreten, haben sich bisher weder experimentell noch an Hand von Sektionsmaterial stützen lassen. Wir möchten trotzdem die grundsätzliche Möglichkeit einer supravitalen Entstehung der in den 3—5 sec-Präparaten gefundenen Veränderungen derzeit noch nicht völlig ausschließen.

### Literatur

- Berg, St.: Die Altersbestimmung von Hautverletzungen. *Z. Rechtsmedizin* **70**, 121 (1972).
- Berg, St., Ditt, J., Kunze, P.: Beziehungen zwischen Histamingehalt und Aktivität der Histi-  
dindecaboxylase im Bereich von Hautverletzungen. *Z. Rechtsmedizin* **69**, 26 (1971).
- Detzer, St., Stampfl, B., Wetzstein, R.: Gestaltwandel der Thrombozyten im experimentellen  
Thrombus. *Verh. anat. Ges. (Jena)* **60**, 221 (1965).
- Fazekas, I. Gy., Viragos-Kis, E.: Der Gehalt der Erhängungsfurche an freiem Histamin als  
vitale Reaktion. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **56**, 250 (1965).
- Fatfeh, A.: Histochemical distinction between antemortem and postmortem skin-wounds.  
*J. forens. Sci.* **11**, 17 (1966).
- Friebel, L., Woohsmann, H.: Die Altersbestimmung von Kanüleneinstichen mittels enzym-  
histochemischer Methoden. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **62**, 239 (1968).
- Frost, H., Hess, H.: Untersuchungen zur Pathogenese der arteriellen Verschlußkrankheiten  
(I). *Klin. Wschr.* **20**, 1099 (1968).
- Frost, H., Hess, H.: Zur Pathogenese der arteriellen Verschlußkrankheiten (II). *Klin. Wschr.*  
**47**, 245 (1969).
- Frost, H.: Untersuchung der arteriellen Gefäßinnenfläche mit dem Rasterelektronenmikro-  
skop. In: *Generalisierte intravaskuläre Gerinnung*, S. 105. Stuttgart-New York: Schattauer  
1971.
- Hou-Jensen, K.: Histochemical demonstration of some hydrolytic enzymes in human skin  
wounds. — Their applicability as vital reactions in medico-legal practice. *J. forens. Med.*  
**15**, 91 (1968).
- Köppel, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Funktionsmorphologie der  
Thrombozyten und zum Gerinnungsablauf im normalen menschlichen Nativblut. I. *Z.  
Zellforsch. Abt. Histochemie* **47**, 401 (1958).
- Lindner, I.: Vitale Reaktionen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **59**, 312—344 (1967).
- Ludwig, H.: Ultrastruktur des muralen Thrombus in Uterusvenen. *Phlébologie* **1**, 1 (1972).
- Mueller, B.: *Gerichtliche Medizin*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953.
- Nadvornik, F., Klir, P., Strejce, P.: *Experimentální Traumatikuze v Histochemickém Obraze*.  
*Soud. Léč.* **16**, 5—11 (1971).
- Pioch, W.: Histochemische Untersuchungen über die Darstellbarkeit früher Zell- und Gewebs-  
alterationen nach lokaler Hitzeeinwirkung auf die Haut von Mäusen und Meerschwein-  
chen. *Habilitationsschrift*, Universität Bonn 1963.
- Pioch, W.: Die histochemische Untersuchung thermischer Hautschäden und ihre Bedeutung  
für die forensische Praxis. Lübeck: Schmidt-Römhild 1966.
- Pioch, W.: Epidermale Esteraseaktivität als Beweis der vitalen Einwirkung von stumpfer Ge-  
walt. *Beitr. gerichtl. Med.* **25**, 136—145 (1969).
- Prokop, O.: *Lehrbuch der Gerichtlichen Medizin*. Berlin: VEB-Verlag 1960.
- Raekallio, I.: Die Altersbestimmung mechanisch bedingter Hautwunden mit enzymhisto-  
chemischen Methoden. Lübeck: Schmidt-Römhild 1965.

- Raekallio, I.: Determination of the age of wounds by histochemical and biochemical methods. *J. forens. Sci.* **1**, 3—16 (1972).
- Raekallio, I.: Enzyme histochemistry of wound healing. (Progr. Histochem. Cytochem. Hrsg.: Graumann, W., Sojda, Z., Pearse, A. G. E., Schiebler, T. H.: Bd. 1, Nr. 2, **VI**, 51. Stuttgart-Portland: Fischer 1970.
- Raekallio, I., Levonen, E.: The appearance of esterases in rat skin wounds. *Ann. Med. exp. Fenn.* **41**, 305 (1963).
- Raekallio, I., Mäkinen, P. L.: Serotonin and histamine contents as vital reactions, II Autopsy studies. *Zacchia* **45**, 403 (1970).

Dr. med. E. Böhm  
D-8000 München 15, Frauenlobstraße 7  
Bundesrepublik Deutschland