

Zur Ultrastruktur von Blutungen nach wiederholter Traumatisierung

Ein Beitrag zur Unfallrekonstruktion

Ekkehardt Böhm

Abteilung für Gerichtliche Medizin der Medizinischen Fakultät der Rheinisch-Westfälischen
Technischen Hochschule Aachen (BRD)

Eingegangen am 15. Dezember 1973

The Ultra-Structure of Haemorrhagies after Repeated Traumatization

Summary. As sequence to earlier investigation of local vital reactions and wound age estimation (SEM check of the wound surface) we tried to produce impairment of local haemostasis, which might occur after severe trauma with traffic accidents, by animal experiments. Specifically the following results were arrived at:

1. Severe, lethal trauma of the skull, the brain and the thorax, decapitation as well as severe hypoxia, result in heavy impairment of haemostasis, when the skin is further subjected to perforating traumatization.

2. The pattern of this disturbance is different under different conditions.

3. It may be possible to draw conclusions as to the cause of the haemostatic disturbance at the time of the traumatization.

Although there are no reasons apparent why the results gathered at animal experiments should not be applicable for traffic accidents too, respective tests, remain to be carried out.

Zusammenfassung. In Fortführung früherer Untersuchungen zur lokalen Vitalreaktion und Wundaltersschätzung (rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Wundoberfläche) wurde versucht, tierexperimentell Störungen der lokalen hämostatischen Reaktion hervorzurufen, wie sie beim Menschen nach schweren Traumatisierungen im Straßenverkehr auftreten können. Im einzelnen waren folgende Ergebnisse zu erzielen:

1. Schwere tödliche Schädel-Hirn- und Thorax-Traumen, Dekapitation und extreme Hypoxie führen zu erheblichen lokalen Störungen der Hämostase bei weiterer perforierender Traumatisierung der Haut.

2. Das Muster dieser Störungen ist unter verschiedenen Bedingungen different.

3. Ein Rückschluß auf die Ursache der hämostatischen Störung zum Zeitpunkt der jeweiligen Traumatisierung erscheint nicht ausgeschlossen.

Gegen eine Übertragung der tierexperimentellen Befunde auf die Verhältnisse bei Verkehrsunfällen scheint es keine grundsätzlichen Bedenken zu geben, jedoch stehen entsprechende Untersuchungen noch aus.

Key words: Traumatologie, Ultrastruktur von Blutungen — Vitale Reaktionen, Ultrastruktur von Blutungen.

In früheren rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen zusammen mit Tomakow beschäftigten wir uns mit den Fragen lokaler Vitalreaktion und Wundaltersbestimmung. Die Ergebnisse tierexperimenteller Untersuchungen ließen sich durch Befunde aus dem Sektionsgut bestätigen.

Abweichungen waren durch Austrocknungserscheinungen bei äußeren Verletzungen, durch Autolyse, postmortale Fibrinolyse und Fäulnis erklärbar. Diese Abweichungen waren zu erwarten und stellen den grundsätzlichen Wert der Methodik nicht in Frage.

Wir hatten zunächst den einfachen Fall einer einmaligen Verletzung beschrieben. Es lag nahe, neue tierexperimentelle Untersuchungen modellmäßig auf den Problembereich Straßenverkehrsunfall auszurichten und insbesondere das Problem der simultanen und sukzessiven Mehrfachtraumatisierung anzugehen. Der wesentlichste Gesichtspunkt lag in der Fragestellung, welche ultrastrukturellen Unterschiede in der formalen Ausgestaltung der Wundoberfläche bei geänderter hämodynamischer Ausgangssituation des Organismus vorliegen.

Zur Erzielung vergleichbarer Wundverhältnisse wurde auf Anaesthetie bzw. Narkose in den neuen Versuchsreihen verzichtet. Als Wundfläche wurden 5 cm lange Rasierklingschnitte durch die Rückenhaut von weiblichen, 250 g schweren Albinoratten gesetzt. Die Expositionszeit für die Hämostase wurde mit 1 min gewählt, da nach dieser Zeit in Vorversuchen eine ausreichend beurteilbare Wundflächenabdeckung erreicht war. Die Versuchstiere wurden nach dieser Zeit dekapitiert und die Rückenhaut mit der Schere innerhalb von 1—2 sec ausgeschnitten, sofort in 3,8%iger Natriumcitratlösung, danach in gepufferte Glutaraldehydlösung (1%, pH = 7,2, Phosphatpuffer nach Sørensen) verbracht. Die Fixierungsflüssigkeit wurde mehrfach ausgetauscht, im Anschluß daran mit 3%iger Glutaraldehydlösung nachfixiert (3 Std)¹, der Aldehyd mit Pufferlösung ausgewaschen, danach in destilliertem Wasser nachgespült. Die Entwässerung erfolgte über Aceton, eine zusätzliche Entfettung erfolgte mit Tetrahydrofuran. Eine Aufspannung der Hautstücke auf Korkplatten wurde aus verschiedenen Gründen nicht durchgeführt. Montage der Proben und Bedampfung wie üblich mit Kohlenstoff und Gold, Untersuchung in einem Rasterelektronenmikroskop Stereoscan der Firma Cambridge². Anzahl der Versuchstiere je Serie 1—7: 5, Serie 8: 10. Anzahl der Präparate für die Rasterelektronenmikroskopie: 103.

Die Traumatisierung der Versuchstiere wurde wie folgt vorgenommen:

1. Durch Verhämmern Schädelzertrümmerung und extreme Hirnquetschung. Es wurde sofort nach der Verhämmerung in die Rückenhaut eingeschnitten.
2. Gleich massives Schädel-Hirn-Trauma, Einschnitten in die Rückenhaut nach einer Wartezeit von 1 min.
3. Setzung eines massiven Thoraxtraumes mit Rippenserienbrüchen und Hämatothorax (tödlich), Einschnitt in die Rückenhaut nach 1 min Wartezeit.
4. Geringes stumpfes Trauma der hinteren Extremitäten, Wartezeit wiederum 1 min bis zum Einschnitten.
5. Massive Verhämmerung der hinteren Extremitäten, gleiche Wartezeit (1 min).
6. Dekapitation der Versuchstiere, Wartezeit zunächst 1 min, dann in weiteren Serien Reduzierung auf 5 sec.
7. Erzeugung einer extremen Hypoxie durch Einschweißen der Versuchstiere in Plastikbeutel, Setzen der Schnittverletzung nach Fixierung der Tiere durch die Plastikhülle hindurch.
8. Zur Kontrolle gleiche Schnitte in die Rattenrückenhaut ohne sonstige zusätzliche Beeinträchtigung der Versuchstiere.

1 Eine Vorfixierung wurde zur Verbesserung der Ausspülbarkeit angewandt, die Nachfixierung zur Stabilisierung der Strukturen.

2 Frau Prof. Doris Schachner danken wir für die Untersuchungsmöglichkeit mit dem Gerät, Frau Borges für ihre stets freundliche Hilfe bei auftretenden Störungen.

Bei der Untersuchung der Anschnittflächen wurde besondere Bedeutung den Fibrinstrukturen auf der Kollagenoberfläche beigemessen. Die hier vorgetragenen Ergebnisse beziehen sich ausdrücklich nicht auf Blutungen unterhalb des Coriums (Fettgewebsblutungen, subfasciale Blutungen, Muskelblutungen).

Bei einfacher Traumatisierung durch einen Schnitt in die Rückenhaut ist die Wundfläche im Bereich des Coriums in der Regel nach 1 min von dichten Faser-netzen (Fibrin) bedeckt (Abb. 1). Die Netze zeigen regelmäßige, geordnete Strukturen. Die Maschendichte der Netzwerke ist unterschiedlich. Besonders an den Stellen, an denen die Kollagenfasern infolge der Präparation etwas auseinander-gewichen sind, finden sich auch weitmaschige Netze, die wir für diagnostisch weniger bedeutsam halten. Entscheidend für den vitalen Charakter sind unserer Meinung nach die außerordentlich engmaschigen Netzbildungen, wie sie auf zahl-

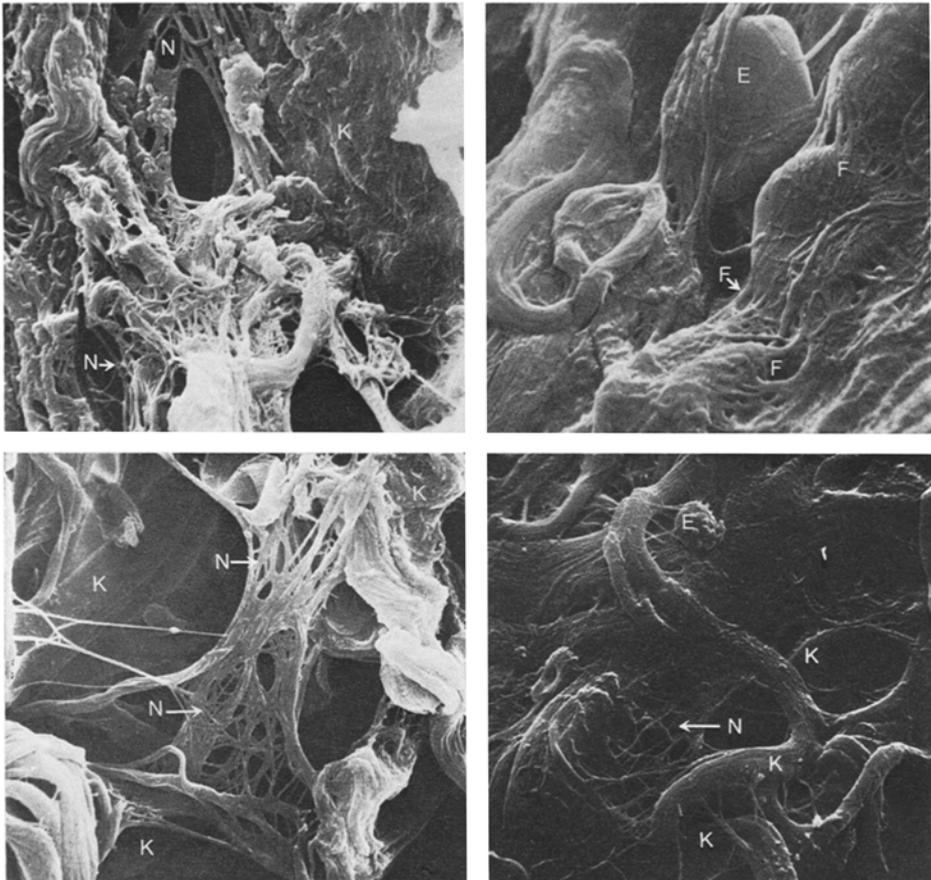


Abb. 1. Kontrollversuch, Einschnitt in die Rattenrückenhaut ohne Vortraumatisierung, Expositionszeit für die Hämostase 1 min. Die Abbildungen zeigen dichte Fibrinvernetzungen (*F*) über Erythrocyten (*E*) und Kollagenfasern. In der linken unteren Abbildung sind die Kollagenfasern (*K*) stärker auseinandergewichen, es werden hier mehr aufgelockerte Netze (*N*) beobachtet. Die Architektur der Netzbildung ist im allgemeinen deutlich geordnet

reichen Darstellungen klar zu erkennen sind. Zur exakten Beurteilung der Befunde ist es jedoch erforderlich, die ganze Präparatoberfläche durchzumustern und die verschiedenen Stadien bzw. Altersstufen einer Analyse zu unterwerfen.

Nach schweren Schädel-Hirn- und Thorax-Traumen nimmt die Dichte der Wundabdeckung in der initialen Phase bis zu 1 min nach dem Trauma zu, in der zweiten Phase, nach einer Latenzzeit von 1 min gesetzte Schnittflächen zeigen dagegen eine verringerte Besetzung mit Blutgerinnungselementen. Die Komposition des Fibringefüges bzw. der Netzwerke erscheint in beiden Phasen gestört. Diese Störung manifestiert sich insbesondere in der Initialphase, hier findet man massenhaft granuläres Material, das, teilweise flächenhaft, teilweise in der Art traubenförmiger Gebilde, in die Oberflächenstrukturen eingelagert ist. Vielfach

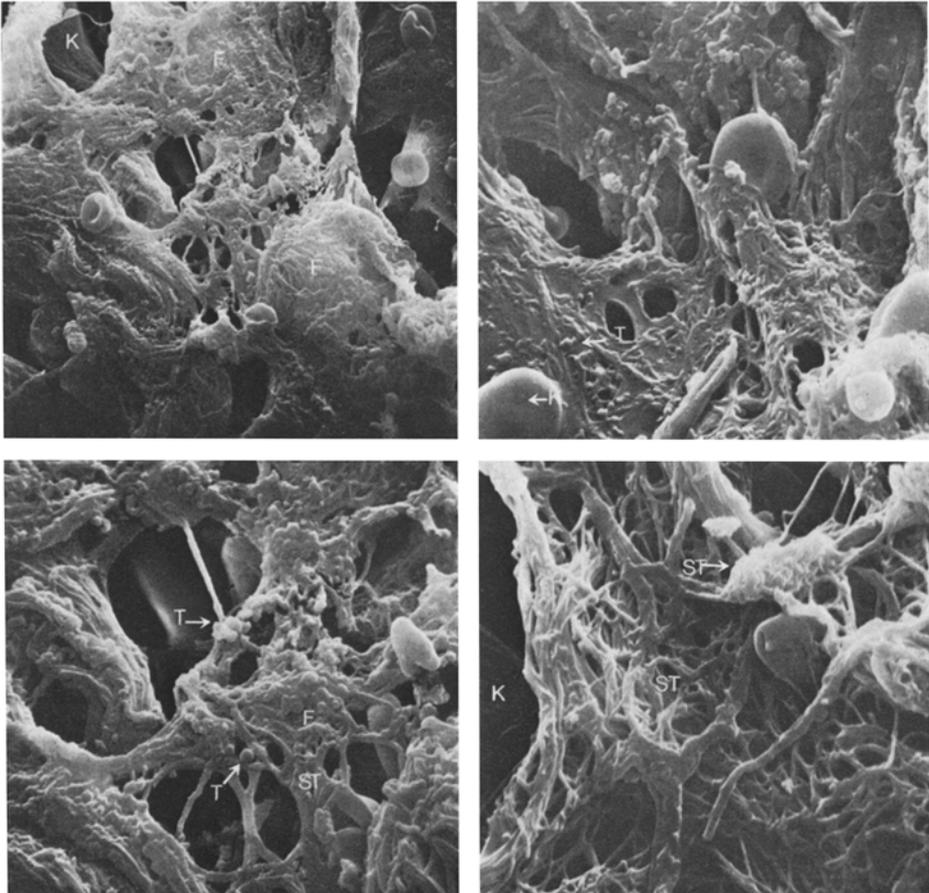


Abb. 2. Schweres Schädel-Hirn-Trauma mit Schädelzertrümmerung und Hirnquetschung: Initialphase, Einschnitt in die Rattenrückenhaut sofort nach Setzung des Traumas, Expositionszeit 1 min. Deutlich dichter Oberflächenbesatz des Kollagens (*F*), reichlich rundliche Gebilde, vermutlich Thrombocyten (*T*), daneben kugelförmige Anlagerungen auch an Erythrocyten (*K*). Störung der Netzstruktur der Fibrinapete (*ST*).

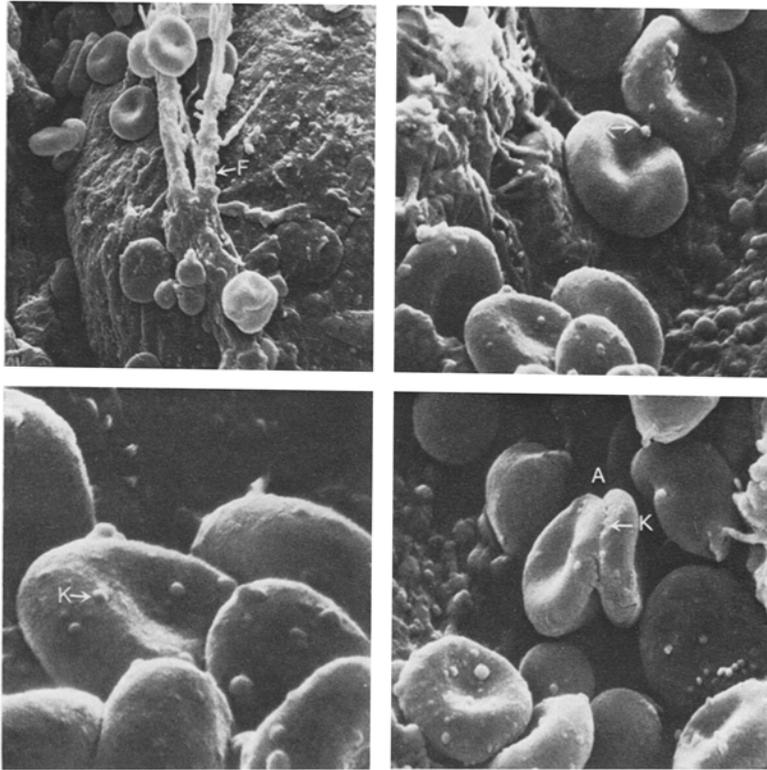


Abb. 3. Kugelige bis granuläre Auflagerungen (*K*) auf locker aufliegenden Erythrocyten (*E*) (keine intensive Spülung der Wundfläche). In der rechten unteren Abbildung Aggregation (*A*) zweier Erythrocyten, die möglicherweise durch Adhäsion an derartigen Auflagerungen zustande kommt

wird derartig granuläres Material auch an der Oberfläche von roten Blutkörperchen gefunden. Ob es sich hierbei um Thrombocytenreste bzw. -aggregate mit Fibrinanteilen handelt oder ob diese granulären Elemente zumindest teilweise mit intravasculär entstandenen „Shockbodies“ identisch sind, war zunächst nicht sicher zu entscheiden. Dieses granuläre Material läßt sich einschließlich locker aufliegender Erythrocyten durch geeignete Spülverfahren zum größten Teil aus der Wundoberfläche auswaschen.

Die Architektur des Fibringefüges erscheint in beiden Phasen gegenüber den Kontrolluntersuchungen verändert, und zwar wiederum in differenter Weise. In der zweiten Phase hatten wir den Eindruck einer feinmaschigeren Vernetzung der einzelnen Fibrinfasern, nach Art eines Strickmusters.

Nach leichter Vortraumatisierung der hinteren Extremitäten der Versuchstiere zeigte sich nur eine geringfügige Variation in der Gesamtstruktur der Fibrin tapete, nach erheblicher Verhämmerung der hinteren Extremitäten in ähnlicher Weise wie nach schweren Schädel-Hirn- und Thorax-Traumen Störungen der Fibrinvernetzung.

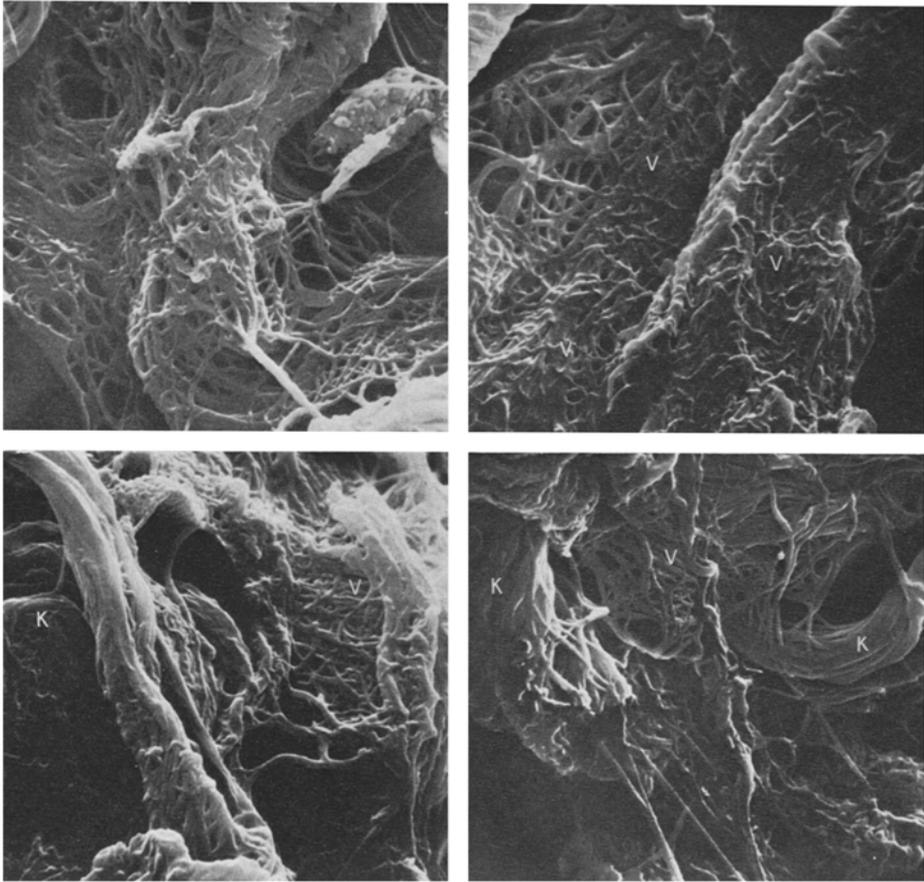


Abb. 4. Zweite Phase nach Schädel-Hirn-Trauma: Wartezeit 1 min bis zur Traumatisierung der Rückenhaut, Expositionszeit für die Hämostase wiederum 1 min. Sehr intensive Vernetzung (V) der Fibrinstrukturen, geringerer Oberflächenbesatz als in Abb. 2

Hochgradige Störungen der Vermaschung mit völliger Desintegration des Netzwerkes waren im Hypoxieversuch festzustellen. Die Fasern zeigten sich erheblich verknäuelnd, teilweise nur geringgradig vernetzt, an anderen Stellen wiederum lagen dichte Faserfilze vor.

Gewisse Parallelen in der Netzstruktur fanden sich zwischen Hypoxieversuch und nach Dekapitation der Versuchstiere. Die Verknäuelung der Fasern war nach Dekapitation jedoch nur angedeutet.

Die erzielten Befunde lassen sich unserer Meinung nach zunächst folgendermaßen zusammenfassen:

1. Unter allen angegebenen experimentellen Bedingungen war ein reaktiver Besatz der Wundoberfläche durch Gerinnungselemente des strömenden Blutes nachzuweisen. Dieses Ergebnis interpretieren wir im Sinne einer lokalen Vitalreaktion.

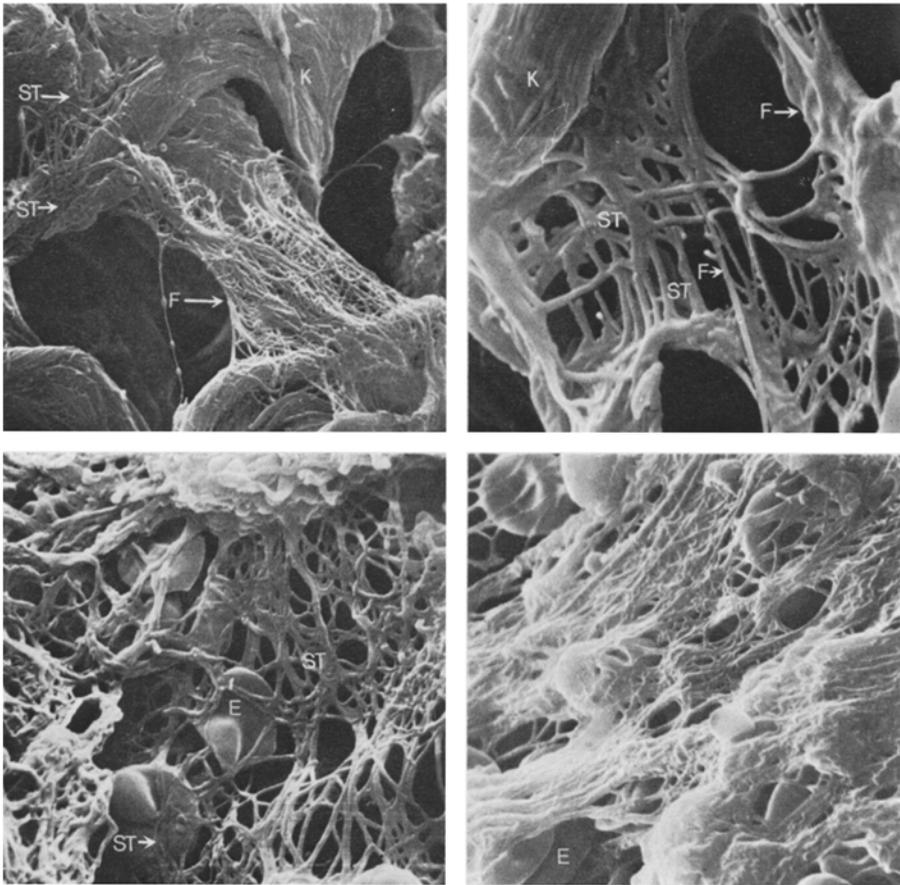


Abb. 5. Verhämmerng der hinteren Extremitäten: Deutliche Störungen in der Netzbildung (ST). K Kollagen, F Fibrin

2. Nach leichter Vortraumatisierung der Versuchstiere wurde die Oberflächenvernetzung des Fibrins an der erneut gesetzten Wundfläche nur geringfügig gegenüber den Kontrollen (Einfachtraumatisierung) gestört.

3. Massive Traumatisierung von Schädel-Hirn, Thorax und Extremitäten führte zu deutlich erkennbaren starken Gefügestörungen der zweiten Wundfläche. Ein ähnliches Verhalten fand sich nach Dekapitation der Versuchstiere. Entsprechend dem raschen Zusammenbruch der Kreislauffunktion nach Dekapitation ist die reaktive Phase gegenüber den üblichen Traumen erheblich verkürzt.

4. Wunden, die im Zustand extremer Hypoxie der Versuchstiere gesetzt wurden, zeigten eine besonders stark ausgeprägte Umgestaltung der Wundoberfläche.

Für praktische Gegebenheiten, wie sie nach Verkehrsunfällen vorliegen können, haben sich zunächst folgende Gesichtspunkte für die Beurteilung von Wundflächen erarbeiten lassen:

1. Gravierende Veränderungen der hämostatischen Reaktionslage des Organismus' sowie Schockbedingungen der Kreislaufsituation führen zu Gefügestörungen bei Vernetzung der

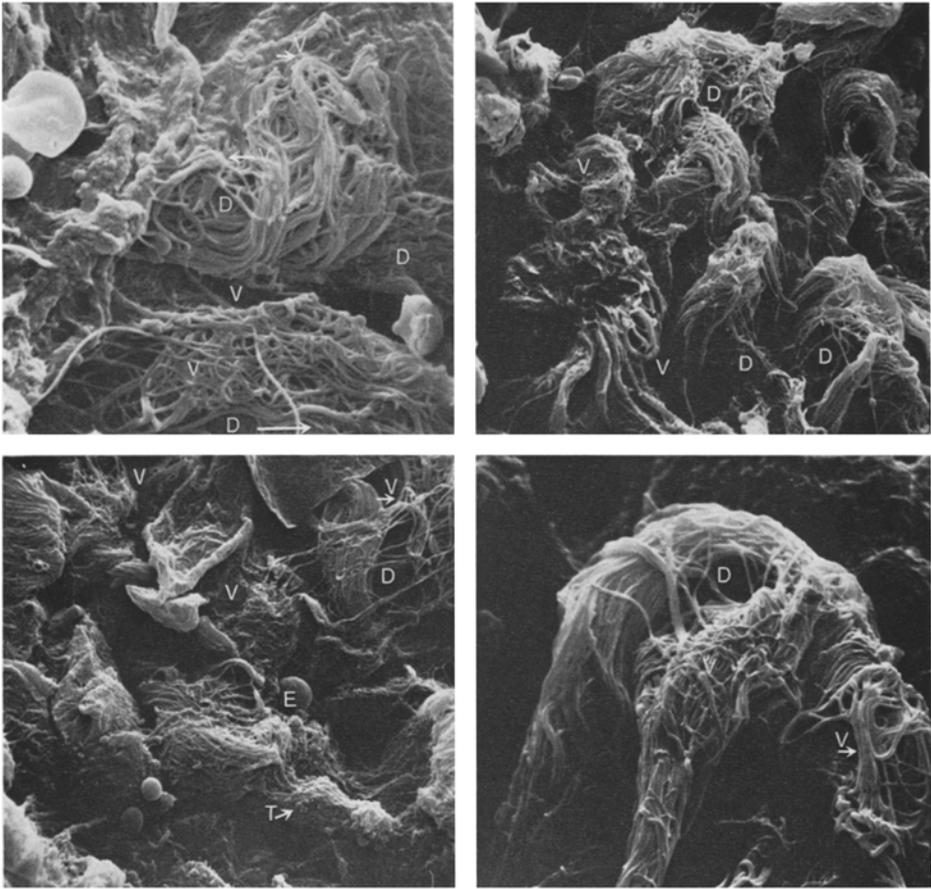


Abb. 6. Hypoxieversuche: Verknäuelung der Fasersysteme (V). Völlige Dissoziation der Netzstruktur (D), ungeordnete Wundbedeckung

Gerinnungselemente auf der corialen Wundfläche. Umgekehrt lassen starke Veränderungen der Wundoberfläche (gegenüber der Norm) einen Rückschluß auf die hämostatische Ausgangssituation des Organismus' zu.

2. Gegenüber dem üblichen Oberflächenabschluß bei geringer Einmaltraumatisierung (Bagateltrauma) ist mit Schwierigkeiten der Wundaltersschätzung beim Vorliegen von Mehrfachtraumatisierung zu rechnen.

3. Art und Umfang der Störungen der Wundoberflächenstruktur scheinen vom Zeitpunkt der zweiten Traumatisierung abzuhängen.

4. Eine Differenzierung zwischen mehr kreislauf- und mehr gerinnungsbedingten Strukturvarianten der Fibrinnetze erscheint prinzipiell möglich, wie die Dekapitationsversuche zeigen.

5. Durch extreme Hypoxie hervorgerufene Störungen der Fibrinbedeckung lassen sich von traumatisch (hämostatisch-zirkulatorisch) bedingten unterscheiden.

6. Die lokale Hämostase verstehen wir prinzipiell nicht als vitales „Zeichen“ (wie Gewebsblutungen), sondern als vitale Reaktion, wie sich auf Grund morphologischer Befunde und funktioneller Überlegungen ergibt.

7. Einen realisierbaren Bezug zum Agoniebegriff (für praktische Bedingungen) konnten wir zunächst nicht herstellen.

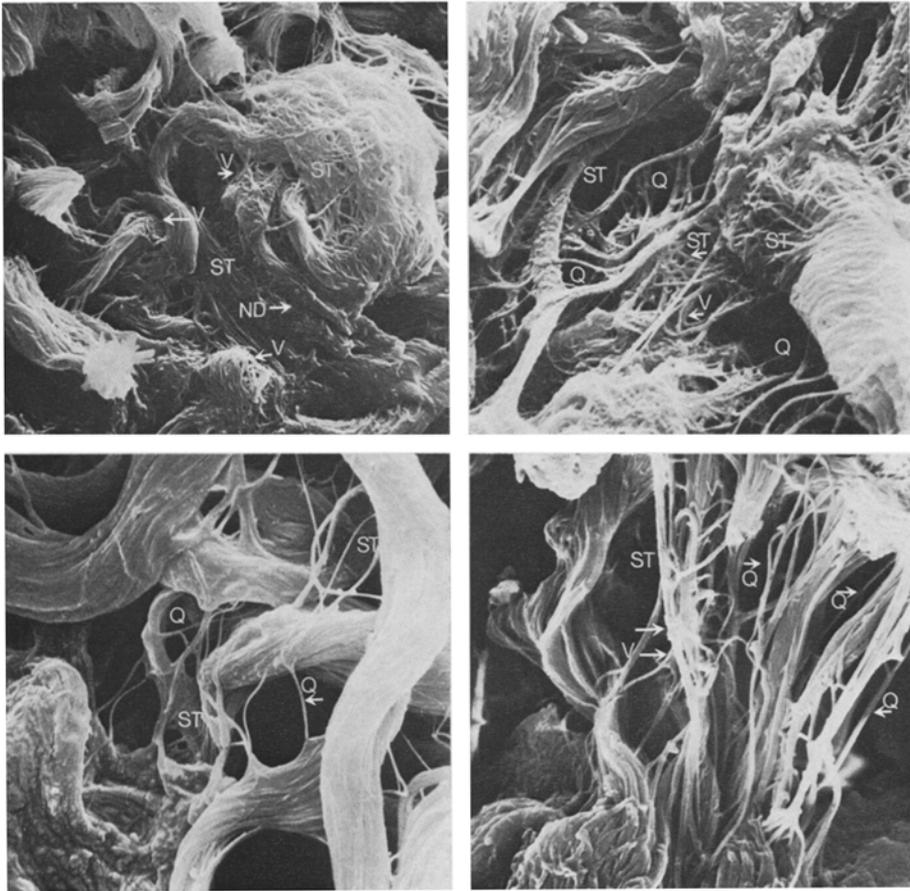


Abb. 7. Zustand nach Dekapitation der Versuchstiere, Wundsetzung 5 sec nach Dekapitation, Expositionszeit für die Hämostase 1 min. Auch diese Abbildungen zeigen, jedoch in geringerem Umfang als die von Abb. 6, eine Störung der Wundflächenbesetzung durch Fibrinnetze, die Netze mit unterschiedlichen Strukturen (*ST*), wenig ausgebildete Quervernetzung (*Q*) an vielen Stellen, unregelmäßige Dichte der Fasersysteme (*ND*), Knäuelungstendenz, jedoch bei weitem nicht so ausgeprägt wie in Abb. 6 (*V*)

Literatur

- Böhm, E., Tschomakov, M.: Ein Sekundenphänomen der vitalen Reaktion demonstriert an Stichverletzungen. *Z. Rechtsmedizin* **71**, 235 (1972 a)
- Böhm, E., Tschomakov, M.: Ein Sekundenphänomen der vitalen Reaktion. Vortrag 51. Tagg. Dtsch. Ges. f. Rechtsmed., Wien 1972 (b)
- Böhm, E., Tschomakov, M.: Frühe Merkmale einer vitalen Reaktion. Untersuchungen an Schnittverletzungen der Rattenhaut. *Z. Rechtsmedizin* **72**, 111 (1973)
- Frost, H.: Untersuchungen der arteriellen Gefäßinnenfläche mit dem Rasterelektronenmikroskop. Generalisierte intravasculäre Gerinnung, S. 105. Stuttgart: Schattauer 1971
- Frost, H., Hess, H.: Zur Pathogenese der arteriellen Verschlußkrankheiten. *Klin. Wschr.* **20**, 1099 (1969)
- Frost, H., Hess, H., Richter, I.: Zur Pathogenese der arteriellen Verschlußkrankheiten. *Klin. Wschr.* **20**, 1099 (1968)

- Ludwig, H.: Ultrastruktur des muralen Thrombus in Uterusvenen. *Phlebologie und Proktologie* **1**, 1 (1972)
- Ludwig, H., Brück, H.-J., Metzger, H.: Kombinierte lichtmikroskopische Untersuchungen als Vorbereitung zur Rasterelektronenmikroskopie, unter besonderer Berücksichtigung der Morphologie des Fibrins. *Leitz-Mitt.* **5**, 207 (1972)
- Ludwig, H., Metzger, H.: Das uterine Plazentarbett post partum im Rasterelektronenmikroskop, zugleich ein Beitrag zur extravasalen Fibrinbildung. *Arch. Gynäk.* **210**, 251 (1971)
- Owren, P. A.: Die Wirkung des Kontaktes auf die Blutgerinnung, S. 753. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956

Dr. Ekkehardt Böhm
Abteilung für Gerichtliche Medizin
der Medizinischen Fakultät
D-5100 Aachen, Lochnerstraße 4—20
Bundesrepublik Deutschland