

## Originalarbeiten — Original Papers

# Histaminspiegel und Lungenmastzellen bei Tod durch Verblutung

Steffen Berg

Institut für Rechtsmedizin der Universität Göttingen

Klaus D. Friedberg und Gisela Garbe

Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Göttingen (BRD)

Eingegangen am 5. Februar 1974

### Histamine Level and Lung Mast Cells in Death from Hemorrhage

*Summary.* The continuous determination of the plasma histamine level during fractionated exsanguination of guinea pigs over a period of 40—60 min showed that considerable amounts of histamine are released in blood plasma in 1 or 2 waves. Accordingly, a reduction of the histamine content and the number of mast cells in the lung was observed, together with the development of disstorage forms to a degree comparable with the findings in anaphylatoxic shock. In man, too, after death by bleeding the number of mast cells in the perivascular connective tissue of the lungs was found to be less than with other causes of death with short agony.

*Zusammenfassung.* Die fortlaufende Bestimmung des Plasmahistaminspiegels bei fraktionierter Entblutung von Meerschweinchen über 40—60 min ergab, daß hierbei in 1 bis 2 Wellen erhebliche Histaminmengen im Blutplasma erscheinen. Parallel hierzu fand sich eine Reduktion des Histamingehaltes und der Mastzellzahl in der Lunge, verbunden mit der Entwicklung von Entspeicherungsformen in einem den Befunden beim Anaphylatoxinschock vergleichbaren Ausmaß. Auch beim Verblutungstod des Menschen fand sich im perivaskulären Bindegewebe der Lungen eine geringere Mastzellichte als bei anderen Todesarten mit kurzer Agonie.

*Key words:* Agonie, Histamingehalt des Blutes — Histamin, bei Verblutungstod — Mastzellen, bei Verblutungstod — Verblutungstod, Histaminspiegel und Lungenmastzellen.

Die klinische oder kriminalistische Feststellung des Todeszeitpunktes muß gelegentlich durch eine retrospektive Ermittlung des Agonieverlaufs aus dem Leichenbefund ersetzt oder ergänzt werden. Neben verschiedenen morphologischen Befunden können auch beim gewaltsamen Tod biochemische Parameter eine Aussage über Art und Ablauf des Finalgeschehens gestatten. So hat für die Differentialdiagnose von Erstickungen gegenüber Reflextodesfällen der Nachweis des agonalen Catecholaminausstoßes im Leichenblut besondere Bedeutung [1—4]. Bei diesen thanatochemischen Blutanalysen wurden vielfach auch erhöhte Histaminwerte gefunden, und zwar einerseits bei Tumoren und Pneumonien, zum anderen aber auch bei Erstickungen, traumatischen Schockzuständen und Verblutung [1, 2, 5, 20]. Experimentelle Beobachtungen hierzu liegen nur vereinzelt [7], klinische (u. a. [13]) in größerer Zahl vor.

Die Frage nach dem Ursprung des agonal freigesetzten Histamins ist bisher ungeklärt. In erster Linie wäre natürlich an die Entspeicherung von Thrombocyten und Blut-Basophilen zu denken, aber auch für die Mitwirkung von Gewebsmastzellen gibt es Hinweise, wobei die Freisetzung von Histamin nicht notwendig mit Degranulation verbunden sein muß [22, 24].

Bekanntlich kommt es im Tierversuch bei Hautverletzungen im Zusammenhang mit der Entstehung des Wundödems zur Mastzellentspeicherung [6, 18]. Schayer führte die flüchtigen Anstiege des Histamins im zirkulierenden Blut beim traumatisierten Versuchstier auf die Entspeicherung dermalen Depots zurück. Die Untersuchungen über die Abnahme des Lungenhistamins und der Mastzellzahl im Lungengewebe beim anaphylaktischen Schock [9, 14, 17, 21, u. a.] ließen aber auch an zentralsystemische Quellen denken.

Über die Auswirkung pathologischer Einflüsse auf den Mastzellstatus der Lunge, vor allem beim Menschen, liegen kaum Erfahrungen vor, die über die schon seit Ehrlich bekannte Tatsache hinausgingen, daß die Mastzellen bei akuten Entzündungen vorübergehend verschwinden, während sie bei Fibrosierungsprozessen vermehrt vorhanden sind [16, 17, 21, 25]. Die Mastzellen beim Menschen gelten als seltener, vulnerabler bzw. schwerer nachweisbar. Holczabek fand neuerdings im Gegensatz zu Staemmler, daß die Lungenmastzellen im laufenden Autopsiematerial mit gepuffertem Toluidinblau auch nach längerer Leichenzeit gut darstellbar sind. Beziehungen zwischen Mastzellzahl und Histamingehalt des Herzmuskels beim plötzlichen Tod werden von Fazekas *et al.* erwähnt. Über den Einfluß von Blutverlusten auf den Histaminspeicher der Lunge ist bisher nichts bekannt; im Gefolge der chronischen hypochromen Anämie wurde eine Vermehrung der Mastzellen im Knochenmark beobachtet [12a].

## Material und Methodik

### 1. Tierversuche

6 Meerschweinchen im Gewicht von 325—725 g wurden in Lokalanästhesie (Novocain 2%ig) durch fraktionierten Blutentzug (Entnahme von je 1 ml Blut alle 2 min) entblutet; der Tod trat auf diese Weise nach 32—57 min ein. Von jeder Blutfraktion mit einem Na-Oxalat-Zusatz von 4 mg/ml wurden 0,2 ml Plasma für die Histaminbestimmung verwendet. Für die Mastzellzählung (a) und die Bestimmung des Gewebshistamins (b) wurden beide Lungen herangezogen, wobei (a) bzw. (b) im Wechsel dreimal an der rechten bzw. linken Lunge erfolgten. Zum Vergleich wurden diese beiden Parameter an 5 Kontrolltieren und je 4 Tieren, die im akuten anaphylaktischen bzw. Anaphylatoxinschock gestorben waren, in gleicher Weise untersucht.

### 2. Menschliches Lungengewebe

Die Mastzellichte wurde auch an Sektionsmaterial von 5 Personen bestimmt, die an äußerer oder innerer Verblutung gestorben waren; die Agoniedauer lag in diesen Fällen mit Stich- oder Schußverletzungen des Herzens oder größerer Arterien zwischen 10 und 40 min. Zum Vergleich wurden 9 Fälle mit unterschiedlichen anderen Todesursachen herangezogen, davon 6 mit kurzer, 3 mit langer Agonie. Die Leichenzeit lag zwischen 12 und 40 Std; die Materialentnahme erfolgte ohne besondere Auswahl jeweils von 3—4 peripheren, nicht-hypostatischen Lungenpartien verschiedener Lappen.

### 3. Histaminbestimmungen

a) Die Bestimmung im Plasma erfolgte nach der von Lorenz *et al.* (1970) angegebenen Methode mit folgenden Modifikationen. Statt der von den Autoren benutzten Blutmenge von 20 ml stand uns nur 1 ml zur Verfügung, so daß jeweils nur 0,2 ml Plasma pro Analyse zu

gewinnen war. Um mögliche Verluste zu vermeiden, wurde die Plasmamenge mit 0,5 ml Puffer verdünnt sofort auf die Säule aufgetragen. Die Zeit zwischen Blutentnahme und Aufbringen des Plasmas auf die Säule betrug 1 min. Der weitere Analysengang erfolgte nach der von Lorenz *et al.* (1970) beschriebenen Methode. Entsprechend den veränderten Mengenverhältnissen lag die untere Nachweisgrenze bei 5 ng Histaminbase pro Milliliter Plasma. Zur Kontrolle jeden Analysenganges wurden 1 Leerwert und 2 Standardwerte (10 und 20 ng Histaminbase) mitgeführt. Die Reproduzierbarkeit war gut und ergab bei den Standardwerten Schwankungen von  $\pm 12\%$ . Um auch diese Fehlerquelle auszuschließen, wurde das Analyseergebnis auf die jeweils mitgeführten Standardwerte bezogen.

b) Im Lungengewebe erfolgte die Bestimmung unter Extraktion mit 0,4 n Perchlorsäure in allen Details nach dem bekannten Verfahren von Shore *et al.*

#### 4. Bestimmung der Mastzell-dichte

Die Meerschweinchenlungen bzw. Gewebstücke menschlicher Lungen wurden nach der Entnahme 24—48 Std in 4%iger wäßriger Bleiacetatlösung nach Holmgren (Pb-Hydroxyacetat 7414 Merck) fixiert und nach Paraffineinbettung Schnittserien aus Ober-, Mittel- und Untergeschoß mit 0,05%igem Toluidinblau in Phosphatpuffer pH 5,6 min gefärbt; 10 min Wässern in Aqua dest., Eindecken in Glyceringelatine. Die Ermittlung der Mastzellzahl erfolgte durch die Auszählung von je 10, pro Lunge also 30 Flächen von je 0,01 cm<sup>2</sup> mit dem Ocularmikrometerfeld bei 240facher Vergrößerung; Mittelung der pro Areal gewonnenen Durchschnittszahlen und Umrechnung auf den Wert pro Quadratzentimeter. Gewertet wurden außer den intakten auch die bei dieser Vergrößerung noch erkennbaren Entspeicherungsformen.

### Ergebnisse

Beim Meerschweinchen ergab die fortlaufende Bestimmung des Plasmahistaminspiegels unter dem Einfluß der Entblutung einen erheblichen Anstieg der Werte (Tabelle 1). Die Freisetzung der insgesamt recht großen Histaminmenge erfolgte nicht kontinuierlich, sondern mit fortschreitendem Blutverlust sich zu 1 bis 2 Wellen steigernd, deren Gipfel meist um die 12. bis 20. min gefunden wurden (Abb. 1).

Parallel hierzu fand sich eine Reduktion der Lungenhistamingehalte, welche etwa die Größenordnung der Werte im protrahierten anaphylaktischen Schock erreicht (Tabelle 2).

Dieser Verminderung des Lungenhistamingehaltes entsprach morphologisch eine eklatante Abnahme der Mastzellenzahl im Lungengewebe. Während wir bei den Kontrolltieren Werte von 2000—4000/cm<sup>2</sup> fanden, ergab sich nach der fraktionierten Entblutung eine Reduktion der durch Metachromasie des Zelleibes noch erkennbaren Mastzellen auf durchschnittlich 600/cm<sup>2</sup>, ähnlich wie nach Auslösung eines anaphylaktischen oder Anaphylatoxinschocks, verbunden mit dem Auftreten von Entspeicherungsformen aller Grade. Bei Tier Nr. 17, welches keine Verminderung des Lungenhistamingehaltes gezeigt hatte, fand sich auch keine Reduktion der Mastzellzahl. Dieses Tier war deutlich früher gestorben als die anderen; es wurde bei der statistischen Auswertung ausgeklammert (Abb. 2).

Auffällig erschienen bei der näheren morphologischen Analyse die Unterschiede im Entspeicherungsgrad zwischen den im akuten anaphylaktischen und den nach Anaphylatoxingabe gestorbenen Tieren bei gleicher Überlebenszeit von 3—5 min: im ersteren Fall deutliche Degranulierung an den noch sichtbaren Mastzellen, aber weniger Formen mit (schon oder noch) erkennbarer Granulolyse; im letzteren Fall auch morphologisch ersichtlich noch stärkere Entspeicherung insofern, als

Tabelle 1. Plasmahistaminwerte (ng/ml)

| Blut-<br>entnahmezeit<br>(min) | Meerschweinchen Nr. |     |     |     |    |     |
|--------------------------------|---------------------|-----|-----|-----|----|-----|
|                                | 17                  | 18  | 19  | 21  | 22 | 23  |
| 0                              | —                   | 40  | 32  | 16  | 10 | 13  |
| 2                              | 5                   | 40  | 47  | 123 | 46 | —   |
| 4                              | —                   | 9   | 31  | 142 | 40 | —   |
| 6                              | 5                   | 37  | 51  | 314 | 21 | 18  |
| 8                              | 28                  | 52  | 67  | 134 | 10 | —   |
| 10                             | 65                  | 21  | 87  | 128 | 25 | —   |
| 12                             | 155                 | 158 | 90  | 232 | 35 | 18  |
| 14                             | 90                  | 27  | 77  | 68  | 23 | 94  |
| 16                             | 2                   | 84  | 111 | 95  | 24 | 45  |
| 18                             | 33                  | 77  | 152 | 128 | 39 | 40  |
| 20                             | 26                  | 96  | 57  | 106 | 48 | 108 |
| 22                             | 32                  | 165 | 31  | 139 | 39 | 162 |
| 24                             | 33                  | 90  | 25  | 259 | 6  | 54  |
| 26                             | 16                  | 115 | 15  | 139 | 6  | 52  |
| 28                             | —                   | 90  | 21  | 184 | 17 | 63  |
| 30                             | +                   | 64  | 38  | 19  | 11 | —   |
| 32                             |                     | 56  | 77  | 8   | 21 | —   |
| 34                             |                     | 52  | 57  | 24  | 17 | —   |
| 36                             |                     | 59  | 15  | 14  | 24 | —   |
| 38                             |                     | +   | 31  | 23  | 34 | —   |
| 40                             |                     |     | 12  | 13  | 6  | 4   |
| 42                             |                     |     | +   | 63  | 23 | —   |
| 44                             |                     |     |     | +   | +  | —   |
| 50                             |                     |     |     |     |    | 63  |
| 52                             |                     |     |     |     |    | +   |

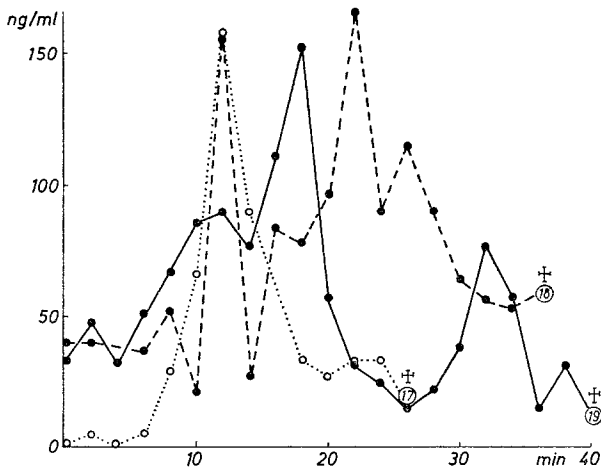


Abb. 1. Verhalten des Histamin-Blutspiegels während der Verblutung (Meerschweinchen, Konzent. Histaminbase/Plasma bei 3 Tieren)

Tabelle 2

|                                  | Histaminwerte $\mu\text{g/g}$ Lunge |           |                  |  | $\bar{x}$ |
|----------------------------------|-------------------------------------|-----------|------------------|--|-----------|
|                                  |                                     |           |                  |  |           |
| Normalwerte (sens.)              | 21,8                                | $\pm$ 7,3 | (n = 10)         |  | 21,8      |
| Akuter anaphylakt. Schock        | 2,8                                 | 8,1       | 6,8              |  | 5,9       |
| Protrahierter anaphylakt. Schock | 14,1                                | 10,6      | 9,4              |  | 11,3      |
| Anaphylatoxinschock              | 3,8                                 | 8,7       | 7,8              |  | 6,7       |
| Entblutung                       | (24,7)                              | 8,3       | 15,1 8,3 8,6 8,8 |  | 12,3      |

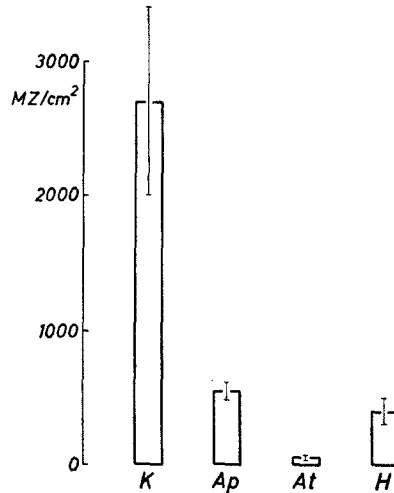


Abb. 2. Mastzellendichte in der Meerschweinchenlunge ( $\bar{x} \pm s$ ). *K* Kontrolltiere ( $n = 5$ ); *AP* akuter anaphylaktischer Schock ( $n = 4$ ); *At* Anaphylatoxinschock ( $n = 4$ ); *H* hämorrhagischer Schock ( $n = 6$ )

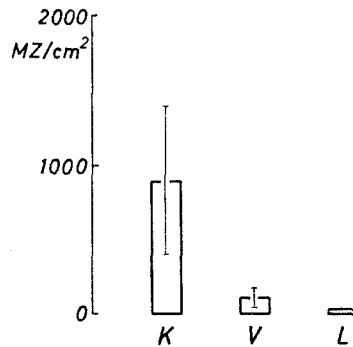


Abb. 3. Mastzellendichte in der menschlichen Lunge ( $\bar{x} \pm s$ ). *K* Fälle mit kurzer Agonie ( $n = 6$ ); *V* Verblutung ( $n = 5$ ); *L* Fälle mit langer Agonie ( $n = 3$ )

die noch zählbaren Mastzellen meist eine diffuse Verfärbung der Zellumgebung durch bereits erfolgte Granulolyse aufwiesen. Die Entblutungstiere zeigten einen zwischen diesen Bildern liegenden Befund mit stärkerer Tendenz zur Granulolyse.

Beim Menschen fanden wir, entsprechend den Erfahrungen von Holczabek, ebenfalls regelmäßig einen, bekanntlich weniger gleichmäßig verteilten [15] Mastzellbestand, wobei sich die Zählung auf die peribronchialen und besonders perivasalen Bindegewebsräume beschränken muß und dadurch weniger gut standardisierbar wird. Unterschiede schienen in erster Linie von der Agoniedauer abhängig zu sein. Im menschlichen Material fanden wir, auch bei kurzem Agonieverlauf, offenbar durch postmortale Autolyse bedingt, fast nur „Entspeicherungsformen“ mit zarteren Granula und häufiger Granulolyse. Ein finales Lungenödem scheint die Befunde negativ zu beeinflussen; die besterhaltenen Mastzellpopulationen fanden wir in Säuglingslungen. Trotz dieser Einschränkungen fiel auf, daß gerade bei der Todesursache „Verblutung“ weitergehende Mastzellzerstörungen vorherrschten. Man sah bei starker Reduktion der Zahl noch als solcher erkennbarer Mastzellen praktisch nur noch Degranulationsrelikte und diffuse Metachromasie-Loci nach Granulolyse. Zählte man pro Schnitt 5 mm<sup>2</sup> perivasculäres Bindegewebe aus und mittelte die Werte von 4—5 Präparaten verschiedener Lungenabschnitte, so ergab sich eine deutliche Abnahme der Mastzell-dichte bei Verblutung auch in dem menschlichen Material (Abb. 3). Die Differenz gegenüber den anderweitigen Fällen mit prolongierter Agonie ist allerdings nicht signifikant.

#### Literatur

1. Berg, St.: Das postmortale Verhalten des Blutes etc. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **40**, 1—75 (1950)
2. Berg, St.: Physiologisch-chemische Befunde im Leichenblut als Ausdruck des Todesgeschehens. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **54**, 136—149 (1963)
3. Berg, St.: Adrenalin- und Noradrenalinwerte im Blut bei gewaltsamen Todesursachen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **57**, 179—183 (1966)
4. Berg, St., Bonte, R.: Catecholaminwerte im Leichenblut und -liquor bei verschiedenen Agonieformen. Z. Rechtsmedizin **72**, 56—62 (1973)
5. Berg, St., Ditt, J.: Il contenuto in istamina del sangue cadaverico nelle morti. *Zacchia* **44**, 569—586 (1969)
6. Berg, St., Ditt, J., Friedrich, D., Bonte, W.: Möglichkeiten der biochemischen Wundaltersbestimmung. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **63**, 183—198 (1968)
7. Eichler, O., Speda, G., Wolff, E.: Histaminwerte im Blutplasma bei Anoxämie. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **202**, 412 (1943)
8. Fazekas, J. Gy., Jobba, Gy., Viragos-Kis, E.: Histamingehalt und Mastzellenzahl im normalen und fibrotischen Herzmuskel. Beitr. path. Anat. **144**, 285—289 (1971)
- 9a. Friedberg, K. D., Poppe, I.: Über die Histaminfreisetzung aus der Meerschweinchenlunge durch Anaphylatoxin in vivo. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. **257**, 19—20 (1967)
- 9b. Garbe, G., Friedberg, K. D.: Properties of the histamine stores affected in the anaphylactic and anaphylatoxin shock of the guinea pig. I. und II. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. **273**, 401—413, 414—421 (1972)
10. Holczabek, W.: Die Mastzellen der Lunge des Menschen. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **54**, 175—177 (1963)
11. Lagunoff, D.: The mechanism of histamine release from mast cells. Biochem. Pharmacol. **21**, 1889—1896 (1972)
12. Lorenz, W., Benesch, L., Barth, H., Matejka, E., Meyer, R., Kusche, J., Hutzler, M., Werle, E.: Fluorimetric assay of histamine in tissues and body in the nanogram range. Z. anal. Chem. **252**, 94—98 (1970)
- 12a. Messerschmitt, H.: La mastocytose médullaire dans les hémorragies répétées. Sang **26**, 252 (1955)
13. Moon, V. H.: Das Schocksyndrom. Dtsch. med. Wschr. **1934**, 1676—1681

14. Mota, J., Vugman, J.: Effects of anaphylactic shock and compound 48/80 on the mast cells of the Guinea pig lung. *Nature (Lond.)* **1965**, 427—429
15. Niebauer, G.: Funktion der Blut- und Gewebsmastzellen. *Blut* **26**, 267—273 (1968)
16. Pernis, B., Saffiotti, A., Tommasini, D.: Behavior of the pulmonary mastcells in the course of silicosis. *Zit. n. Holczabek*
17. Riley, J. F.: *The mastcells*. Edinburgh-London: Livingstone 1959
18. Sanyal, R. K., West, G. B.: The role of histamine and 5-HT in injury. *Int. Arch. Allergy* **26**, 362 (1965)
19. Schayer, R. W.: Relationship of stress-induced histidin-decarboxylase to circulatory and homoeostasis shock. *Science* **131**, 223 (1960)
20. Schweitzer, H.: Zur Pathogenese der Schockzustände und ihrer Diagnose an der Leiche. *Ärztl. Forsch.* **6**, 76—78 (1952)
21. Selye, H.: *The mastcells*. Washington: Butterworths 1965
22. Shelley, W. B., Resnik, S. S.: Influence of several drugs on basophile blood cells. *J. invest. Derm.* **43**, 491 (1964)
23. Shore, P. A., Burkhalter, A., Cohn, V. H., jr.: A method for the fluorimetric assay of histamine in tissues. *J. biol. Chem.* **215**, 337—344 (1955)
24. Smith, E. D.: Histamine liberation without mastcell degranulation. *Amer. J. Physiol.* **193**, 573—580 (1958)
25. Staemmler: Untersuchung über Vorkommen und Bedeutung der histogenen Mastzellen im menschlichen Körper unter normalen und pathologischen Verhältnissen. *Frankfurt. Z. Path.* **25**, 391—435 (1921)

Prof. Dr. Steffen Berg  
Institut für Rechtsmedizin  
D-3400 Göttingen, Geiststraße 7  
Bundesrepublik Deutschland