

Der Einfluß von Blutverlust und Alkohol auf die frühen Wundreaktionen*

S. Berg, G. Bode, G. Garbe und U. Sillus

Institut für Rechtsmedizin der Universität Göttingen
Windausweg 2, D-3400 Göttingen, Bundesrepublik Deutschland

The Influence of Loss of Blood and Alcohol Intoxication on Early Vital Wound Reactions

Summary. The influence of loss of blood and alcohol intoxication on wound reactions in the first 12 hours after incisions into the skin of the back of guinea pigs was examined. As the most important result we found differences in the cellular and zymohistochemical reactions: while begin and progression of the dermal leucocytosis were not influenced, the parallel running activation of different structure bound enzymes was significantly delayed and decreased.

Considering the first result and the haematogenous origin of the leucocytes there is reason to believe that in the hierarchy of the biological control circuit – at least in guinea pigs – the local reflex hyperaemia of the wound area certainly is primary to the dermal vasoconstriction during collapse.

The animals with haemorrhagic shock showed a retardation in the liberation of histamine and serotonin. This decrease of the local mediators of the stromae dissociation is considered the reason of the impaired initial enzyme activities in the mesenchymal tissue.

Zusammenfassung. Untersucht wurde der Einfluß von Blutverlust und Alkoholintoxikation auf die Wundreaktionen in der 1.–12. Stunde nach Schnittverletzung in der Rückenhaut des Meerschweinchens. Als wichtigstes Ergebnis fand sich ein unterschiedliches Verhalten der zellulären und der ferment-histochemischen Reaktion: Während Beginn und zeitliche Progredienz der Wundleukozytose nicht beeinflußt wurden, fand sich die parallel verlaufende Aktivierung verschiedener strukturgebundener Enzyme signifikant verzögert und abgeschwächt. Angesichts der hämatogenen Abkunft der Infiltratzellen spricht der erstere Befund für die Vermutung, daß die lokalreflektorische Hyperaemie des Wundgebiets in der Hierarchie der biologischen Regelkreise gegenüber der kollapsgesteuerten dermalen Vasokonstriktion, jedenfalls beim Meerschweinchen, eine gesicherte Praeferenz genießt. Bei der Entblutungsreihe wurde eine Verzögerung der Freisetzung von Histamin und Serotonin festgestellt. Die Präsenzmindering der lokalen Mediatoren der Grundsubstanzentmischung wird als Ursache einer verschlechterten Ausgangslage für Enzymaktivierungen im mesenchymalen Bereich angesehen.

Key words. Alkohol, Einfluß auf Wundreaktionen – Blutverlust, Einfluß auf Wundreaktionen – Wundreaktionen, Einfluß von Blutverlust und Alkohol

* Auszugsweise vorgetragen auf dem 7. International Meeting of Forensic Sciences, Zürich 1975

Die Bedeutung der Wundaltersbestimmung an der Leichenhaut für die rekonstruierende Begutachtung von Unfällen und Tötungsdelikten wurde schon häufig hervorgehoben [34, 2, 22, 24]. Die Überlebenszeit von Hautverletzungen kann bekanntlich nach dem Aktivierungsgrad verschiedener Enzyme in Verbindung mit dem Fortschreiten der zellulären Reaktionen im histologischen Schnitt vor allem innerhalb der ersten 12 Stunden gut beurteilt werden [4, 29, 21, 22]. Um von der Durchschnittserfahrung auf die Verhältnisse im konkreten Fall schließen zu können, ist es öfters erforderlich, den möglichen Einfluß einer Reihe von exogenen und endogenen Variablen auf die Entwicklung der Wundreaktion zu berücksichtigen. Dabei ist die Bedeutung der somatischen Ausgangslage und gewisser Umweltbedingungen in vielen Punkten noch ungeklärt. Festgestellt wurde eine Verzögerung der Wundheilung durch Röntgen-Bestrahlung, Cortison, verschiedene Krankheiten wie Skorbut, Diabetes, Leberzirrhose und Urämie, experimentell auch durch Denervierung des Wundgebietes [1, 15, 11, 16, 13, 25]. Daß die bei Stress-Reaktionen beobachtete Hemmung der Leukozytendiapedese durch vermehrte Freisetzung von Nebennierenrindenhormon bedingt sei, vermutete schon Selye [30, 31]; die Hemmung der Leukozytenemigration und der Ansammlung von Makrophagen durch ACTH und Corticoide wurde alsbald auch experimentell bestätigt [17]. Auch soll während der ersten Stunden nach Eintritt einer Schock-Symptomatik die Phagozytosefähigkeit der Bluteleukozyten und Makrophagen vermindert sein [27, 28].

Auf eine Verzögerung der Heilungsvorgänge in der reparativen Spätphase der Wundheilung bei alten Leuten hatten bereits Hegemann und Mitarb. [14] hingewiesen. Nach Raekallio und Mäkinen [26] besteht ein Einfluß des Alters auch auf die ferment-histochemisch nachweisbaren frühen Vitalreaktionen, wobei zu unterscheiden ist zwischen einer fehlenden Beeinflussung der sogenannten negativen Vitalreaktion in der inneren Wundzone und quantitativen Differenzen der enzymatischen Reizbeantwortung durch Aktivitätszunahme in der äußeren Wundzone.

Exakte Erkenntnisse über den in der forensischen Praxis häufigen Einfluß von Blutverlust, Kälte und Intoxikationen fehlen bisher. Walcher [34] rechnete noch mit einer grundsätzlichen Verzögerung der dermalen Leukozytose durch „vitalitätsmindernde Einflüsse“. Wir selbst gewannen in einigen praktischen Fällen den Eindruck, daß am menschlichen Material schwere Traumatisierungen mit Blutverlust oder auch Kälteeinwirkung auf die zelluläre Gewebsreaktion keinen bedeutenden Einfluß zu haben scheinen [2], während Raekallio [23] einen Einfluß schwerer und multipler Traumen auf die Fermentreaktionen gefunden hatte. Im Folgenden werden zunächst experimentelle Untersuchungen über die Auswirkungen von Blutverlust und Alkoholisierung unter Einbeziehung histologischer, enzymhistochemischer und biochemischer Methoden berichtet.

Methodik

Fünfer-Kollektive von präadulten, reinrassigen Meerschweinchen vom Stamm Pirbright White W 58 mit einem Körpergewicht bis zu 400 g wurden in Äthernarkose mit Schnittverletzungen der Rücken- haut von 10–12 cm Länge versehen, welche nach Möglichkeit gleich tief bis an die Grenze von Dermis und Subkutis geführt wurden. Anschließend wurde bei allen Tieren eine Karotisligatur angelegt, bei den Tieren der Entblutungsserie außerdem ein Karotiskatheter eingebunden. Den Tieren der Entblutungsserie wurde innerhalb der nächsten 15 Minuten 1/3 der Gesamtblutmenge entzogen. Daß es hierdurch zu einem nicht unbedeutenden hämorrhagischen Schockzustand kommt, wurde durch entsprechende histologische Befunde mit Entspeicherung der Lungenmastzellen veri-

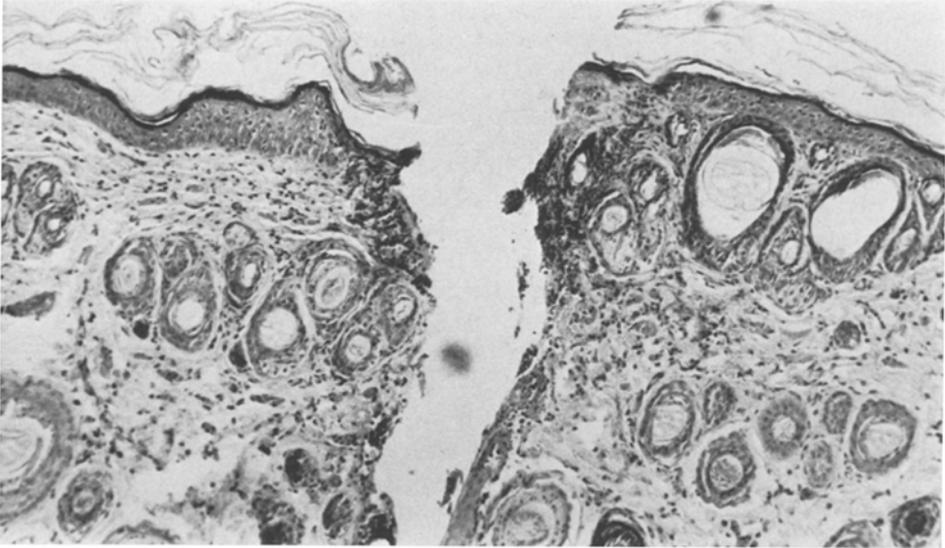


Abb. 1. Beginnende leukozytäre Reaktion im Wundrand. Hämatoxylin-Eosin-Färbung; Vergrößerung: 87,5 fach

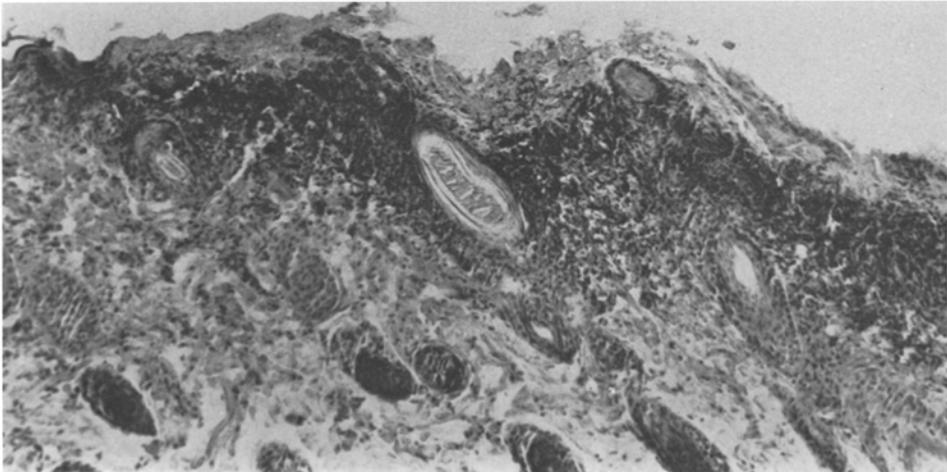


Abb. 2. Kräftige leukozytäre Reaktion im Wundrand. Hämatoxylin-Eosin-Färbung; Vergrößerung 87,5 fach

fiziert; hierüber ist an anderer Stelle berichtet worden [5]. Den Tieren der Alkoholserie wurden durch Schlundsondenfütterung 4 g Alkohol/kg Körpergewicht zugeführt, wodurch in der Anfangsphase des Versuchsablaufs Blutalkoholkonzentrationen von 3–4‰ erreicht wurden; diese sanken im Verlauf von 6 Stunden auf 1–2‰, nach 12 Stunden durchschnittlich auf 0,5‰ ab. Sowohl in der Kontrollserie als auch in der Entblutungs- und Alkoholserie wurden die Tierkollektive jeweils nach 45 und 90 Minuten, 3, 6 und 12 Stunden durch Halothan-Überdosierung getötet, die verletzten Hautpartien unmittelbar danach entnommen und entlang der Schnittführung in 5 Por-

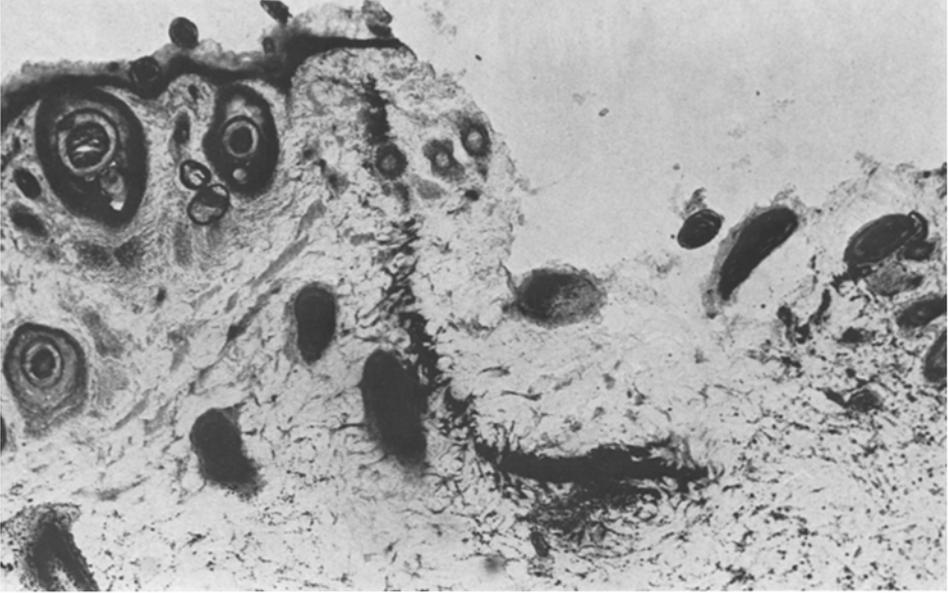


Abb. 3. Beginnende Aktivierung der strukturgebundenen sauren Phosphatase im Wundrand. Färbung nach Grogg und Pearse; Vergrößerung: 87,5 fach

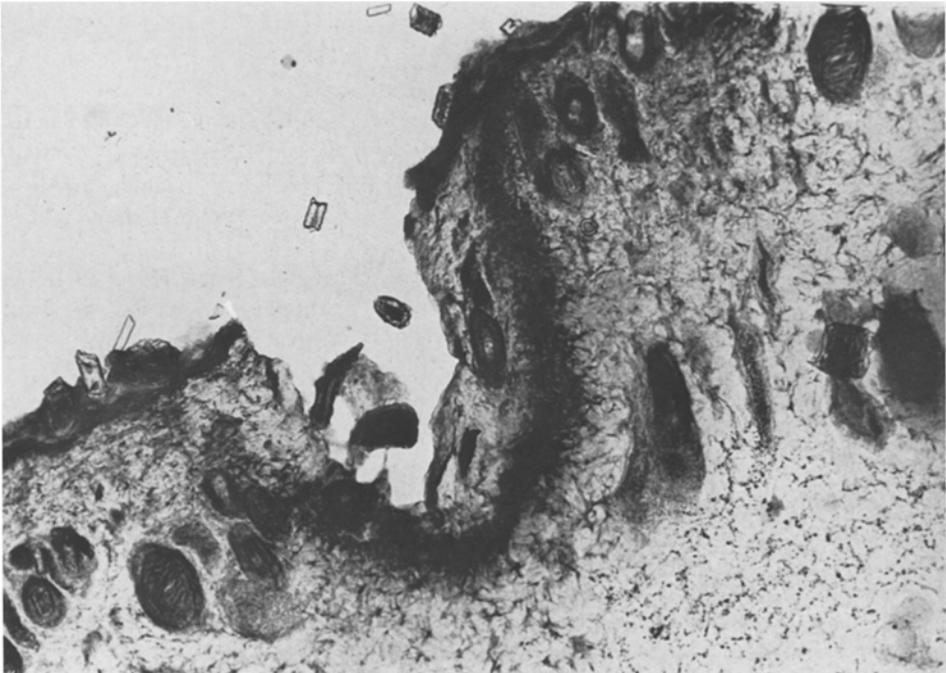


Abb. 4. Kräftige Aktivierung der sauren Phosphatase im Wundrand. Färbung nach Grogg und Pearse; Vergrößerung: 87,5 fach

tionen aufgeteilt. Bestimmt wurden der Histamin- und Serotoningehalt im Wundrand gegenüber der unverletzten Haut nach den wie früher mitgeteilt modifizierten Methoden von Shore et al. bzw. Udenfriend [3], ferner wurden ferment-histochemische Aktivitätsbestimmungen der Adenosin-Triphosphatase, der Leucin-Amino-peptidase und der sauren und alkalischen Phosphate nach den Methoden von Novikoff und Mitarb., Nachlas et al.; Grogg und Pearse sowie Stutte durchgeführt [12, 18, 19, 33], schließlich die zelluläre Wundreaktion am Einbettungspräparat mit der Hämatoxylin-Eosin-Färbung verfolgt. Die histologische und histochemische Auswertung erfolgte nach subjektiven Kriterien, wobei die Intensität der Reaktion an je 2 Schnitten von 5 verschiedenen Tieren der gleichen Überlebenszeit durch 3 verschiedene Untersucher angesprochen und mit einer Werteskala von 1–6 bemessen wurde, ein Vorgehen, wie es auch Raekallio und Mäkinen bei ihren Untersuchungen über den Einfluß des Lebensalters angewendet haben [26]. Auf diese Weise ließen sich auch für die morphologischen Verhältnisse reproduzierbare Mittelwerte für die einzelnen Überlebenszeiten gewinnen.

In den Abbildungen 1–4 sind einige Beispiele für die auf diese Weise unterscheidbaren Intensitätsstufen gezeigt. Abb. 1 zeigt ein Stadium der in Gang befindlichen Verdichtung hämatogener Wanderzellen im dermalen Wundrand bei noch lockerer Ansammlung in den tieferen Gewebsschichten; dieses Stadium, wie es in der Regel nach 1 1/2–3 Stunden anzutreffen war, wurde mit 2 bewertet. Deutliche Gewebsleukozytosen und Wallbildungen im Bereich der Demarkationszone wurden nach 6–12 Stunden beobachtet und mit 4–5 bewertet (Abb. 2). Analoge Beispiele für die Ferment-Aktivierungen sind in Abb. 3 und 4 wiedergegeben: Ein Aktivierungsbild der sauren Phosphatase in der äußeren Wundzone, welches mit Stärke 3 bewertet wurde und ein solches, das mit Stärke 5–6 zu bewerten war. Das Auftreten der negativen inneren Wundzonen war, entsprechend den Erfahrungen von Raekallio, vielfach schon verhältnismäßig früh, nämlich nach 45–90 Minuten, zu beobachten und in der Leucin-Amino-peptidase- bzw. ATPase-Färbung am deutlichsten, es wurde aber in unser Bewertungssystem nicht eingeführt.

Ergebnisse

1. Morphologische Befunde

Die Entwicklung der Gewebsleukozytose in den 3 Gruppen ließ sich in den Mittelwertverlaufskurven praktisch nicht unterscheiden (Abb. 5). Es ist also festzustellen, daß ein bis zum hämorrhagischen Schock führender Blutverlust und eine hochgradige Alkoholintoxikation praktisch ohne Einfluß auf die zellulären Gewebsreaktionen beim Meerschweinchen bleiben.

Interessant erscheint nun das folgende, hiervon abweichende Ergebnis, daß nämlich sämtliche Enzym-Aktivierungen durch die geprüften vitalitätsmindernden Einflüsse im Gegensatz zur zellulären Gewebsreaktion erheblich verzögert und abgeschwächt wurden. Abb. 6 zeigt die Ergebnisse der ATPase-Färbungen. Es wird deutlich, daß sowohl in der Entblutungsgruppe, als auch in der Alkoholgruppe die Reaktionen sich später zu entwickeln beginnen und insgesamt auch hinter den Aktivierungsstufen der Kontrollgruppe zurückbleiben. Diese Differenzen sind auch statistisch auf dem 95%-Niveau gesichert. Die Ergebnisse mit der Leucin-Amino-Peptidase in Abb. 7 sind ganz ähnlich; man könnte hier den Eindruck haben, daß die Alkoholisierung noch stärker depressive Effekte auf die Grundsubstanz-Aktivierung gehabt hat. Dieser Eindruck wird durch das Bild der Mittelwertverlaufskurven bei der sauren Phosphatase (Abb. 8) noch verstärkt, auch hier findet sich eine stärkere Aktivierungsdepression bei den Alkoholtieren. Die Ergebnisse hinsichtlich der alkalischen Phosphatase sind weniger deutlich different (Abb. 9).

Die Ergebnisse lassen sich dahin zusammenfassen, daß Blutverlust und Alkoholintoxikation im Tierversuch keine meßbare Veränderung der zellulären Wundreaktion

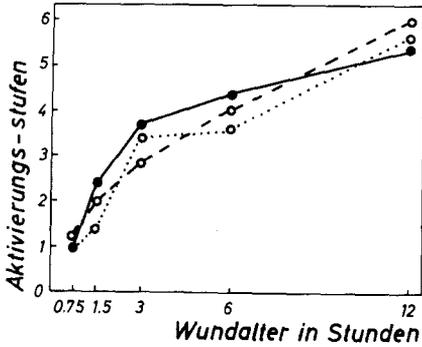


Abb. 5. Leukozytäre Reaktion im Wundrand. ●-● Kontrolle ○--○ Entblutung ○...○ Alkohol. Die angegebenen Zahlen stellen Mittelwerte aus je fünf Versuchen dar

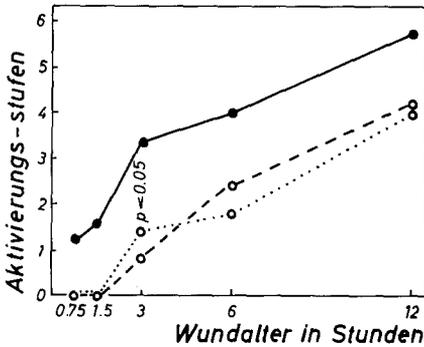


Abb. 6. Aktivierung der Adenosintriphosphatase im Wundrand. ●-● Kontrolle ○--○ Entblutung ○...○ Alkohol. Die angegebenen Zahlen stellen Mittelwerte aus je fünf Versuchen dar

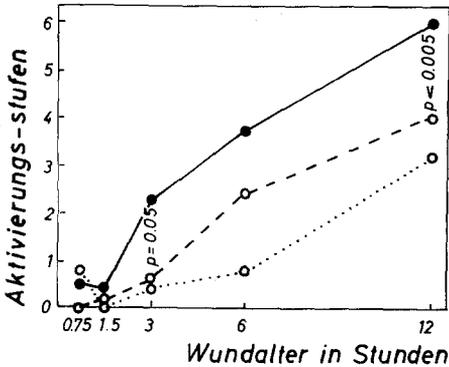


Abb. 7. Aktivierung der Leucinaminopeptidase im Wundrand. ●-● Kontrolle ○--○ Entblutung ○...○ Alkohol. Die angegebenen Zahlen stellen Mittelwerte aus je fünf Versuchen dar

innerhalb der ersten 12 Stunden hervorgerufen haben, während an den gleichen Präparaten eine bedeutende Verlangsamung und Abschwächung der ferment-histochemischen Reaktionen nachzuweisen war.

2. Biogene Amine

2.1 Histamin. Wie aus Abb. 10 zu entnehmen ist, war bei den Kontrolltieren 3 Stunden nach der Schnittverletzung ein kräftiger Histaminanstieg auf rund $2 \mu\text{g/g}$ im Wundgebiet zu beobachten. Interessanterweise fehlt diese Reaktion bei den Tieren, die einen

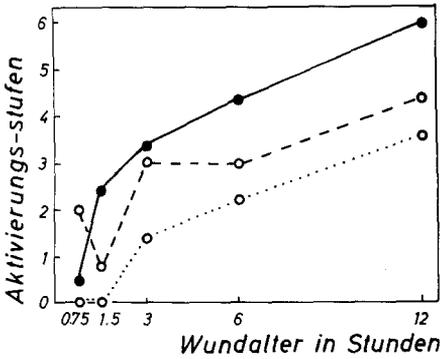


Abb. 8. Aktivierung der sauren Phosphatase im Wundrand. ●-● Kontrolle ○-○ Entblutung ○...○ Alkohol. Die angegebenen Zahlen stellen Mittelwerte aus je fünf Versuchen dar

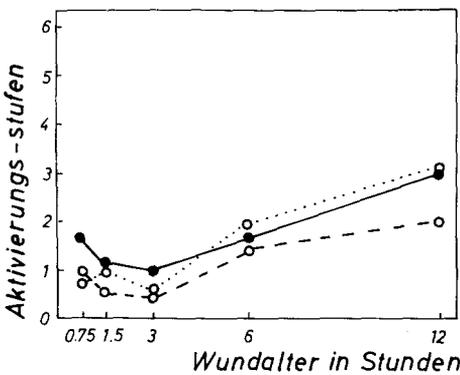


Abb. 9. Aktivierung der alkalischen Phosphatase im Wundrand. ●-● Kontrolle ○-○ Entblutung ○...○ Alkohol. Die angegebenen Zahlen stellen Mittelwerte aus je fünf Versuchen dar

Blutverlust von etwa einem Drittel des Blutgesamtvolumens erlitten hatten, völlig, vielmehr zeigte sich hier 3 Stunden nach Wundsetzung ein leichtes Histamindefizit gegenüber der kontralateralen, unverletzten Rückenhaul. Die alkoholisierten Tiere zeigten ebenfalls eine Abschwächung der Histaminfreisetzung im Wundgebiet.

2.2 Serotonin. Während bei den Kontrolltieren 3, 6 und 12 Stunden nach der Schnittverletzung eine deutliche Serotoninvermehrung im Wundrand beobachtet wurde (Abb. 11), ergab sich bei den Tieren der Entblutungsserie nach 2 Stunden zwar noch ein signifikanter Serotoninüberschuß im Wundgebiet, 6 Stunden nach Verletzung aber zeigte sich ein leichtes Defizit im Wundrand. Die alkoholisierten Tiere zeigten dagegen einen ähnlichen Verlauf der Serotoninkurve wie die Kontrolltiere, die beobachteten Serotoninüberschüsse waren aber im Durchschnitt doppelt so hoch.

Diskussion

Ein wichtiges Ergebnis unserer Untersuchungen ist zunächst die Differenz im Verhalten der zellulären und der ferment-histochemischen Wundreaktion. Derartige Beobachtungen sind bisher noch nicht mitgeteilt worden; ältere Untersucher beschränkten sich auf die konventionell-histologischen Befunde, und Raekallio [26] stellte in seiner jüngsten Arbeit über den Einfluß des Lebensalters auf die Vitalreaktionen ganz auf die Fermentaktivierungen ab, die er entsprechend den Befunden in der Kontrollgruppe gestaffelt vermindert findet: Die Aktivitätssteigerung bei den Esterasen und der Ade-

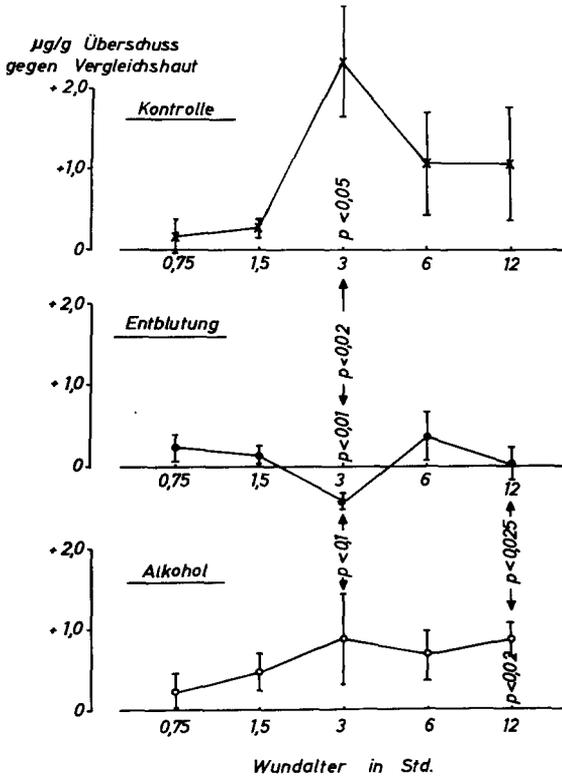


Abb. 10. Verhalten der Histaminkonzentration im Wundrand. ($\mu\text{g/g}$ Base; $\bar{x} \pm s\bar{x}$; $n = 5$)

nosintriphosphatase beginne nach 1 Stunde, die der Amino-peptidase nach etwa 2 Stunden, die der sauren und alkalischen Phosphatase nach 4 bzw. 8 Stunden.

Diese Befunde finden sich in unseren Untersuchungsreihen nur teilweise bestätigt: In der Tat hinkt auch bei unseren Kontrolltieren die Aktivierung der Amino-peptidase gegenüber der ATPase deutlich nach, auch die alkalische Phosphatase erscheint erst um die 6. bis 12. Stunde vermehrt; der Aktivitätsanstieg bei der sauren Phosphatase unterscheidet sich dagegen praktisch überhaupt nicht von dem der „frühen“ Enzyme.

Der Befund, daß der zeitliche Ablauf der zellulären Wundreaktion durch Blutverlust und Alkoholisierung im Meerschweinchenversuch überhaupt nicht beeinflußt wird, entspricht unseren früher mitgeteilten Beobachtungen an Human-Material [2]. Eine Erklärung hierfür angesichts der bisher geläufigen Erfahrung, daß bei allen Kollapsformen im Stadium der kompensierten Oligämie die Hautdurchblutung vermindert ist [7, 29], fällt für die Serie mit hämorrhagischem Schock schwer. Weil die haematogene Abkunft der Infiltratzellen heute unzweifelhaft nachgewiesen erscheint [8], möchte man aufgrund unserer Befunde den Schluß ziehen, daß die lokal-reflektorische Hyperaemie des Wundgebietes in der Hierarchie der biologischen Regelkreise gegenüber der kollaps-gesteuerten dermalen Vasokonstriktion eine gesicherte Praeferenz genießt. Der gleiche Befund im Rahmen der Alkoholisierung ist demgegenüber nicht weiter auffällig, weil die vegetativen Alkoholwirkungen bekanntlich im Regelfall eher eine dermale Vasodilation includieren.

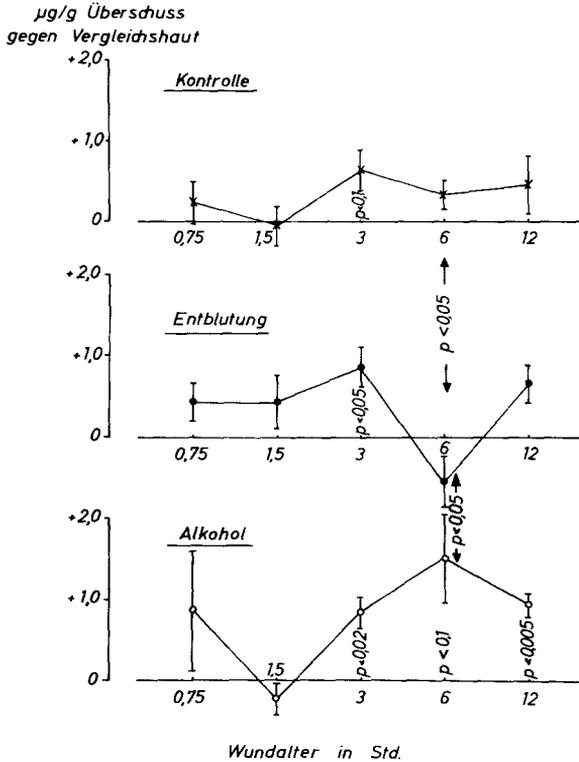


Abb. 11. Verhalten der Serotoninkonzentration im Wundrand. ($\mu\text{g/g}$; $\bar{x} \pm s\bar{x}$; $n = 5$)

Wie aber sind, ceteris paribus, die entgegengesetzten Befunde im Verhalten der strukturgebundenen Enzyme zu erklären? Hier können u. E. die Ergebnisse der biochemischen Bestimmungen Aufschluß bieten. Bei der Entblutungsreihe wurde, hochsignifikant gesichert, ein Rückgang, oder genauer, eine bedeutende Verzögerung der Freisetzung von Histamin und Serotonin festgestellt. Ob dabei Änderungen im Entleerungsverhalten des Mastzellspeichers der Haut zugrundeliegen, können wir nicht sagen; bekannt sind nur Einflüsse von Blutverlust und Alkoholisierung auf den Mastzellbestand der Lunge [6] und von Äthanol auf den Stoffwechselweg des Serotonins [9, 10]. Es kann jedenfalls ohne weiteres supponiert werden, daß unter dem Einfluß von Blutverlust und Alkohol eine Präsenzminderung der lokalen Mediatoren der Grundsubstanzentmischung eintritt und parallel zu geringerer Wundodem-Entwicklung auch die Voraussetzungen für eine Enzymaktivierung im mesenchymalen Bereich verschlechtert sind. Ob man diesem Deutungsversuch nun folgt oder nicht – jedenfalls bleibt für die forensische Fragestellung zu beachten, daß durch Blutverluste und Alkoholisierung mit einer unterschiedlichen Modifikation der zellulären und enzymatischen Wundreaktion, wie auch im Verhalten der sog. Gewebshormone, zu rechnen ist. Die sog. positive Histaminphase [3] kann im hämorrhagischen Schock in eine Negativschwankung verkehrt sein, was zum Beispiel dadurch zustandekommen könnte, daß aus dem Mastzellspeicher der Lunge freigesetzte Histaminquanten in der nichtverletzten („Kontroll“-) Haut eingefangen werden. Interessant und aus dieser Sicht nicht erklärbar ist das zeit-

lich verschobene Verhalten des Serotoninspiegels unter dem Einfluß von Entblutung und Alkohol, ebenso aber zu beachten für diagnostische Belange der forensischen Wundaltersbestimmung, deren wichtigster Pfeiler nach dem Ergebnis dieser Untersuchungen der zelluläre Status zu bleiben scheint.

Literatur

1. Allgöwer, M.: The cellular basis of wound repair. Springfield Ch. C. Thomas.: 1965
2. Berg, S.: Die Altersbestimmung von Hautverletzungen. Z. Rechtsmedizin 70, 121–135 (1972)
3. Berg, S., Ditt, J., Friedrich, R., Bonte, W.: Möglichkeiten der biochemischen Wundaltersbestimmung. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 63, 183–198 (1968)
4. Berg, S., Ebel, R.: Altersbestimmung subkutaner Blutungen. Münch. med. Wschr. 1185–1190 (1969)
5. Berg, S., Friedberg, K. D., Garbe, G.: Histaminspiegel und Lungenmastzellen bei Tod durch Verblutung. Z. Rechtsmedizin 74, 145–251 (1974)
6. Berg, S., Garbe, G., Hirtz, J.: Die Wirkung von Äthanol und Antabus-Reaktion auf den Histamin- und Mastzellgehalt der Lunge. Z. Rechtsmedizin (im Druck)
7. Büchner, F.: Die allgemeine Pathologie des Blutkreislaufes bes. S. 851–856 In: F. Büchner, E. Letterer, F. Roulet (Ed.), Handbuch der allgemeinen Pathologie, Band V, Hilfsmechanismen des Stoffwechsels, 1. Teil. Berlin–Göttingen–Heidelberg–Springer 1961
8. Büchner, Th.: Entzündungszellen im Blut und im Gewebe. Stuttgart: G. Fischer 1971
9. Davis, V. E., Brown, H., Huff, J. A., Cashaw, J. L.: The alteration of serotonin metabolism to 5-hydroxytryptophol by ethanol ingestion in man. J. Lab. Clin. Med. 69, 116–131 (1967)
10. Feldstein, A., Hoagland, H., Freeman, H., Williamson, O.: The effect of ethanol ingestion on serotonin-C 14 metabolism in man. Life Sciences 6, 53–61 (1967)
11. Fuks, B. B., Vinogradov, V. V., Shishkin, G. S., Maksimovskii: Proteins, mycopolysaccharides, enzymes and DNA in skin wounds in alimentary and combined alimentary and chemical avitaminosis C. Fed. Proc. Trans. Suppl. 24, 213–217 (1965)
12. Grogg, E., Pearse, A. G. E.: A critical study of the histochemical techniques for acid phosphatase, with a description of an azo-dye method. J. Path. Bact. 64, 627–636 (1952)
13. Haley, H. B., Williamson, M. B.: Application of present knowledge of wound healing to clinical surgery. Surg. Clin. N. amer. 42, 15–34 (1962)
14. Hegemann, G., Nickell, J., Tischler, F.: Beobachtungen über den Wechsel der Doppelbrechbarkeit und der Trypsinresistenz kollagener Fasern beim Altern von Narbengewebe. Klin. Wschr. 362–364 (1950)
15. Kühnau, J.: Biochemie der Wundheilung. Langenbeck's Arch. klin. Chir. 301, 23–38 (1962)
16. Lindner, J.: Die Morphologie der Wundheilung. Langenbeck's Arch. klin. Chir. 301, 39–70 (1962)
17. Miles, A. A., Niven, J. S. F.: The enhancement of infection during shock produced by bacterial toxins and other agents. Brit. J. exp. Path. 31, 73–95 (1950)
18. Nachlas, M. M., Monis, B., Rosenblatt, D., Seligman, A. M.: Improvement in the histochemical localization of leucine aminopeptidase with a new substrate, L-leucyl-4-methoxy-2-naphthylamide. J. biophys. biochem. Cytol. 7, 261
19. Novikoff, A. B., Drucker, J., Shin, W. Y., Goldfischer, S.: Further studies of the apparent adenosine triphosphatase of all membranes in formalcalcium fixed tissues. J. Histochem. Cytochem. 9, 434–451 (1961)
20. Ojala, K. J.: Morphological and histochemical studies on vital reaction of muscle wound in guinea pig. Ann. Acad. Sci. fenn. 5, 1–100 (1968)
21. Pioch, W.: Die histochemische Untersuchung thermischer Hautschäden und ihre Bedeutung für die forensische Praxis. Lübeck: Max Schmidt-Römhild 1966
22. Raekallio, J.: Histochemical demonstration of enzymatic response to injury in experimental skin wounds. Exp. molec. Path. 4, 303–310 (1965)
23. Raekallio, J.: Application of histochemical methods to the study of traffic accidents. Acta Med. leg. soc. (Liège) 20, 171–178 (1967)

24. Raekallio, J.: Estimation of the age of injuries by histochemical and biochemical methods. *Z. Rechtsmedizin* 73, 83–102 (1973)
25. Raekallio, J., Lindfors, R., Elfving, G., Hästbacka, J., Puittinen, J.: Histochemical observations on wound healing in denervated and healthy rat skin. *Acta path. microbiol. scand.* 62, 53–58 (1964)
26. Raekallio, J., Mäkinen, P. L.: The effect of ageing on enzyme histochemical vital reactions. *Z. Rechtsmedizin* 75, 105–111 (1974)
27. Rebeck, J. W., Mellinger, R. C.: Interruption by topical cortisone of leucocytic cycles in acute inflammation of man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 56, 715–732 (1953)
28. Robinson, H. J., Smith, A. L.: The effect of adrenal cortical hormones on experimental infection. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 56, 757–764 (1953)
29. Schoedel, W., Grosse-Brockhoff, F.: Die Orthologie und Pathologie der Kreislauffunktion; bes. S. 695–699 In: F. Büchner, E. Letterer, F. Roulet (Ed.), *Handbuch der allgemeinen Pathologie*. Bd. V.: Hilfsmechanismen des Stoffwechsels, 1. Teil. Berlin–Göttingen–Heidelberg: Springer 1961
30. Selye, H.: Further studies concerning the participation of the adrenal cortex in the pathogenesis of arthritis. *Brit. Med. J.* 1129–1135 (1949)
31. Selye, H.: *Stress* Montreal: Acta Inc. 1950
32. Smith, A. A.: Interaction of biogenic amines with ethanol. S. 265–275 In: E. Majchrowicz (Ed.), *Biochemical pharmacology of ethanol*. New York–London: Plenum Press 1975
33. Stutte, H. J.: Hexazotiertes Triamino-tritolylmethanchlorid (Neufuchsin) als Kupplungssalz in der Fermenthistochemie. *Histochem.* 8, 327–331 (1967)
34. Walcher, K.: Die vitale Reaktion bei der Beurteilung des gewaltsamen Todes. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 26, 193–211 (1936)

Eingegangen am 27. Dezember 1976