

*Originalarbeiten / Original Works*

**Die Bedeutung topischer Differenzen und kadaveröser Veränderungen der Histamin- und Serotoninwerte für die Wundaltersbestimmung im Tierversuch**

S. Berg, G. Garbe und B. Luerssen

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

**The Significance of Topic Differences and Cadaveric Changes of Histamine and Serotonin Levels for the Determination of the Age of Wounds in Animal Experiments**

**Summary.** Even when the extraction method of Fazekas for the determination of the so-called free histamine and serotonin is used, different dorsal skin areas of laboratory animals show certain differences in the amine content, which reach higher values for histamine than for 5-HT.

1) Related to the animal collective, no differences in the mean values of the 5-HT and histamine content between the right and left side of damaged dorsal skin of guinea pigs resulted, although in single cases remarkable differences (up to 1.26  $\mu\text{g/g}$ ) were found. Descending from nuchal to caudal a decrease of the amine content – less in case of 5-HT, more in case of histamine – is noticed. The observed topical differences possibly depend on the continuous moulting of the animals.

2) From these analytical data a method for statistical prediction is derived, which allows to state, when and with which probability a single difference value exceeds the normal variance. Applied to the comparative measurements wounded skin/control skin it is thus made possible to test the validity of the findings obtained in practical cases.

3) Postmortal changes of the amine content of the wounded as well as the normal skin are not detectable for the 5-HT, while in the case of histamine solely the values of the damaged skin first show a decrease (24 h p.m.), followed by an increase (48 h p.m., bacterial neogenesis?).

**Key words:** Age of wounds – Wound reaction – Histamine-Serotonin.

**Zusammenfassung.** Verschiedene Areale der Rückenhaut von Versuchstieren zeigen auch bei der Anwendung der Extraktionsmethode von Fazekas zum Nachweis des sog. freien Histamins und Serotonins gewisse Differenzen des Amingehaltes, die für Histamin höhere Werte erreichen als für 5-HT.

1) Bezogen auf das Tierkollektiv ergaben sich in der unverletzten Meerschweinchenrückenhaut im Mittel zwischen rechter und linker Rückenseite keine Unterschiede im 5-HT-bzw. Histamingehalt, obwohl im Einzelfall beträchtliche Unterschiede (bis 1,26  $\mu\text{g/g}$ ) gemessen wurden. Absteigend von nuchal nach caudal macht sich beim 5-HT weniger, beim Histamin deutlicher eine Abnahme des Amingehaltes bemerkbar. Die festgestellten topischen Differenzen hängen möglicherweise mit der kontinuierlichen Streumauserung der Tiere zusammen.

2) Aus diesem Zahlenmaterial wird eine Methode zur statistischen Voraussage abgeleitet, die es festzulegen gestattet, wann und mit welcher Wahrscheinlichkeit ein einzelner Differenzwert den normalen Streubereich verläßt. Angewandt auf die Differenzmessung Wundhaut / Vergleichshaut wird es somit möglich, die im praktischen Fall erhobenen Befunde einer Validitätsprüfung zu unterziehen.

3) Eine postmortale Veränderung des Amingehaltes der verletzten wie unverletzten Haut ist beim 5-HT nicht nachweisbar, während beim Histamin nur die Werte in der verletzten Haut zuerst eine Abnahme (24 h p.m.), dann eine Zunahme (48 h p.m., bakterielle Beubildung?) zeigen.

**Schlüsselwörter:** Wundalter – Wundreaktion – Histamin – Serotonin.

Seit Fazekas und Viragos-Kis 1965 ihre Arbeit über die Erhöhung des Gehaltes an sog. „freiem Histamin“ in der Strangfurche veröffentlichten, ist eine Vielzahl von Publikationen über die Freisetzung biogener Amine bei vitalen Hautverletzungen erschienen. Sowohl im Tierversuch [28, 13, 3, 4], als auch im Autopsiematerial [29, 14, 4, 1] ließ sich einige Zeit nach der Verletzung unabhängig von ihrer Art eine Zunahme eben dieses „freien Histamins“ im Wundrand nachweisen, während der Gesamthistamingehalt entweder keinen Unterschied gegenüber der intakten Haut aufwies oder sich im Wundrand vermindert zeigte.

Auf die Begriffe „Gesamthistamin“ bzw. „freies Histamin“ muß an dieser Stelle noch näher eingegangen werden. Fazekas und Viragos-Kis [11] definierten „freies Histamin“ als den Anteil, der aus dem geschädigten Gewebe freigesetzt, aber infolge Sistierens des Kreislaufes nicht mehr abtransportiert wurde. Nach dieser Vorstellung wäre es richtig, daß bei kurzen Überlebenszeiten im Wundmaterial erhöhte Werte von „freiem Histamin“ unveränderten Gesamthistamingehalten gegenüberstehen. Nicht verständlich erscheint dann aber, warum auch bei längeren Überlebenszeiten unverändert hohe Gesamthistaminspiegel angetroffen werden sollten (Fazekas und Viragos-Kis [14]; im Gegensatz Nilzen [24]).

In der Literatur wird seit Trethewie [33] zwischen freiem und gebundenem Histamin unterschieden. Da „conjugated histamine“ erst nach saurer Hydrolyse (Kochen in Eisessig oder Trichloroessigsäure für längere Zeit) bestimmbar wird, äußerte Gaddum [17] die Vermutung, daß es sich um Acethylhistamin, also ein Abbauprodukt handeln könnte. Johnson [20] konnte nachweisen, daß verschiedene Extraktionsmethoden auf die Werte des sog. „freien Histamins“ nur wenig Einfluß haben. Erst durch saure Hydrolyse stiegen die Histaminwerte im Extrakt der Meerschweinchenrückenhaut von vorher 3 auf 20  $\mu\text{g}$  an. Johnson äußerte Zweifel, ob den Gesamthistaminwerten überhaupt eine physiologische Bedeutung zukomme. – Insgesamt hat es sich in der Praxis der forensischen Wundaltersbestimmung bewährt, den freien Histamingehalt zur Begutachtung heranzuziehen.

Da sich die Angabe von Werten für freies Histamin bzw. Serotonin (5-HT) notwendigerweise auf einen Vergleich von Wundhaut und unverletzter Vergleichshaut stützt, muß in diesem Zusammenhang natürlich bekannt sein, ob interindividuelle wie auch topische Unterschiede (Gehalt der unverletzten Haut) an freiem Histamin und Serotonin vorkommen.

Diesbezüglich gibt es bisher nur Angaben für den Menschen (Ebel), während sich die vorliegenden Daten für Versuchstiere weitgehend auf den Gesamthistamingehalt beziehen.

Während beim Meerschweinchen der (Gesamt-) Histamingehalt in Rücken- und Bauchhaut relativ gering ist (zwischen 1,5 und 4,2  $\mu\text{g/g}$ , [15]), zeigten die mastzellreichen Gebiete wie Ohr, Augenlid, Kopf, Lippen und Nase sowie Pfoten wesentlich höhere Histaminspiegel; z. B. Ohr: 14,0–18,5  $\mu\text{g/g}$ , [15]. Auch belegen Messungen von Johnson (21), daß bei jungen Meerschweinchen höhere Histaminwerte gefunden werden. Auch der Histamingehalt der Rattenhaut zeigt große topische Differenzen. Die Angaben schwanken für die Bauchhaut zwischen 24,0 und 47,0  $\mu\text{g/g}$  [10, 9, 16]. Mastzellreiche Gebiete wie Ohr und Pfoten zeigen auch hier höhere Werte (Ohr: 45,0  $\mu\text{g/g}$ , 30; Pfoten: 61,0–65,0  $\mu\text{g/g}$ , [16, 23]). Ob jüngere Tiere höhere Histaminspiegel haben, ist nicht sicher [19, 28]. Interessant erscheint in diesem Zusammenhang die Beobachtung [15], daß der Grad der Behaarung von starkem Einfluß auf den Histamingehalt der Haut sein kann (Mund, Lippe, haarloser Teil: 4,2  $\mu\text{g/g}$ ; behaarte Region: 20,0  $\mu\text{g/g}$ ). – Auch bezüglich des 5-HT-Gehaltes wird in der Literatur von beträchtlichen Differenzen zwischen verschiedenen Körperregionen berichtet, wobei insgesamt weniger Daten vorliegen (Rattenohr: 0,32–3,2  $\mu\text{g/g}$ ; [5, 32, 26]; Bauchhaut der Ratte: 0,66–1,9  $\mu\text{g/g}$  [7,32]; Meerschweinchenhaut: 0,02–0,18  $\mu\text{g/g}$  [25, 6]).

Wegen dieser interindividuellen und topischen Unterschiede wurde schon frühzeitig darauf hingewiesen, daß der Differenzmessung wirklich geeignete Vergleichsproben zugrunde gelegt werden müssen [3] bzw., daß eine vitale Verletzung erst dann angenommen werden dürfe, wenn ein „distinct increase“ der biogenen Amine im Wundgebiet nachgewiesen wurde [27]. Bisher wurde aber noch nicht ermittelt, wann ein gegenüber der Vergleichshaut erhöhter Wert als signifikant für vitale Verletzungen angesehen werden kann bzw. wann das Ausmaß der topischen Streuung überschritten ist.

Eine weitere Frage, die bei der Beurteilung von Autopsiematerial bisher noch wenig Berücksichtigung fand, ist die mögliche postmortale Veränderung freigesetzter Aminquanten im Wundgebiet. Zwar berichten Fazekas und Viragos-Kis [12] über einen vermehrten Gehalt an sogenanntem freiem Histamin in der unverletzten menschlichen Haut, wenn die Leichenzeit mehr als 30 Stunden betrug. Berg und Bonte [2] fanden über einige Tage hinweg bei Kühlraumlagerung aber keine signifikanten Veränderungen des Histamin- und Serotoningehaltes in Wund- und Vergleichshaut bei verschiedenen alten Leichen. Das postmortale Verhalten des im Wundrand erhöhten Gehaltes an freigesetzten Wirkstoffen ist jedenfalls bislang noch nicht systematisch untersucht worden.

## Methodik

Für die Bestimmung topischer Unterschiede im Amingehalt wurden die Tiere ohne Vorbehandlung durch Nackenschlag getötet, rasiert und Hautproben am Rücken beiderseits der Wirbelsäule entnommen. Zur Bestimmung der postmortalen Veränderungen des 5-HT bzw. Histamins im Wundrand erhielten die Tiere unter Äthernarkose in die Rückenhaut rechts der Wirbelsäule einen etwa 10 cm langen Schnitt bis in die Subcutis. Genau zwei Stunden danach wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet. Die Reihenfolge der Hautproben, die 0,8,24 bzw. 48 Stunden post mortem entnommen wurden, wechselte von Versuch zu Versuch. Muskulatur und Unterhautfettgewebe wurden abpräpariert, das Hautstück gewogen und bis zur Extraktion und Analyse bei  $-16^{\circ}$  eingefroren. Nach dem Auftauen wurde die Haut in kleine Streifen (Kantenlänge etwa 1mm) geschnitten und für die 5-HT-Bestimmungen nach dem von Berg et al. [3] modifizierten Verfahren von Udenfriend et al. [34] mit der 10fachen Menge

n/10 HCl in der Kälte (Kühlschrank) etwa 16 Stunden extrahiert, filtriert und anschließend analysiert. Für die Histaminanalyse nach Shore et al. [31] wurde unter den gleichen Bedingungen mit der 10fachen Menge 0,9% NaCl extrahiert und das Filtrat mit Perchlorsäure 70% enteweißt (0,5 ml auf 10 ml Filtrat). Die früher mitgeteilten Vergleichsuntersuchungen [3] ergaben eine zufriedenstellende Recovery des Verfahrens und Reproduzierbarkeit der Werte ( $\pm 0,05 \mu\text{g/ml}$ ) auch ohne eine (technisch problematische) Homogenisierung des Materials.

Die statistische Bearbeitung des Zahlenmaterials verdanken wir Herrn Prof. Brunner, Institut für Medizinische Statistik der Universität Göttingen.

## Ergebnisse

### 1. Topische Differenzen im Gehalt verschiedener Hautareale an „freiem“ Histamin und 5-HT

5 Meerschweinchen wurden am Rücken *auf der rechten und linken Seite* jeweils vier Hautareale von nuchal nach caudal absteigend entnommen. Bei Mittelung aller Einzelwerte ergaben sich weder beim 5-HT noch beim Histamin signifikante Differenzen zwischen der rechten und linken Rückenseite (5-HT,  $\bar{x} \pm \text{sx}$ :  $-0,006 \pm 0,351 \mu\text{g/g}$ ; Histamin:  $-0,043 \pm 0,541 \mu\text{g/g}$ ). Wie aber aus der Höhe der Standardabweichung abzulesen ist, können im Einzelfall doch recht beträchtliche Abweichungen vorkommen; Extremwerte: 5-HT  $+0,65$  bzw.  $-0,63 \mu\text{g/g}$ ; Histamin  $+1,26$  bzw.  $-0,89 \mu\text{g/g}$ .

Zur statistischen Klärung der Frage, welchen Umfang der individuelle Streubereich bei den Werten aus unverletzten, kontralateralen Hautproben erreicht, wurden zuerst die 5-HT-Differenzwerte zwischen rechts und links im Lilliefors-Test [22] auf Normalverteilung geprüft; sie konnte sowohl bei den einzelnen Gruppen nuchal bis caudal wie auch insgesamt nachgewiesen werden. Der Vorhersagebereich für das Wahrscheinlichkeitsniveau des Grenzwertes, bei dem der individuelle Streubereich verlassen wird [18], konnte einseitig gewählt werden, da intravital nur Erhöhungen des 5-HT-Gehaltes im Wundgebiet möglich sind [3]. Für die einzelnen Wahrscheinlichkeitsstufen ergaben sich als positive Grenzwerte:  $p < 0,05 = +0,615 \mu\text{g/g}$ ;  $p < 0,01 = +0,907 \mu\text{g/g}$ ;  $p < 0,0025 = +1,135 \mu\text{g/g}$ . Das gleiche Verfahren wendeten wir auch auf die von uns gemessenen Histaminwerte in der unverletzten Haut an, nachdem auch hier die Normalverteilung statistisch gesichert war. Danach war zu erwarten, daß bei einem Differenzwert von  $+0,917 \mu\text{g/g}$  oder höher der individuelle Streubereich mit einem Wahrscheinlichkeitsgrad von  $p < 0,05$  verlassen wird. Die Zahlen für die anderen Wahrscheinlichkeitsstufen lauteten:  $p < 0,01 = +1,365 \mu\text{g/g}$ ;  $p < 0,0025 = +1,716 \mu\text{g/g}$ .

Des weiteren interessierte die Frage, ob topische Differenzen im 5-HT- oder Histamingehalt zwischen den *nuchalen und den mehr caudal* lokalisierten Hautproben vorliegen. Zu diesem Zweck wurden für jedes Tier die in den nuchalen Hautproben ermittelten Werte gleich null gesetzt und die Ergebnisse der nachfolgenden Hautproben als Differenz zu den nuchalen Werten aufgetragen. Dabei ergab sich für das 5-HT kein signifikanter Unterschied; im Mittel wurden nur  $0,25 \mu\text{g/g}$  5-HT weniger gemessen als in den nuchalen Hautproben. Anders dagegen beim *Histamin*: Hier fanden sich signifikante Abnahmen bis fast  $1 \mu\text{g}$  (vgl. Abb. 1). Daraus läßt sich folgern, daß es besonders bei Bestimmung des Histamingehaltes im Wundgebiet darauf ankommt, daß die Vergleichshaut in gleicher Höhe am Rücken entnommen wird.

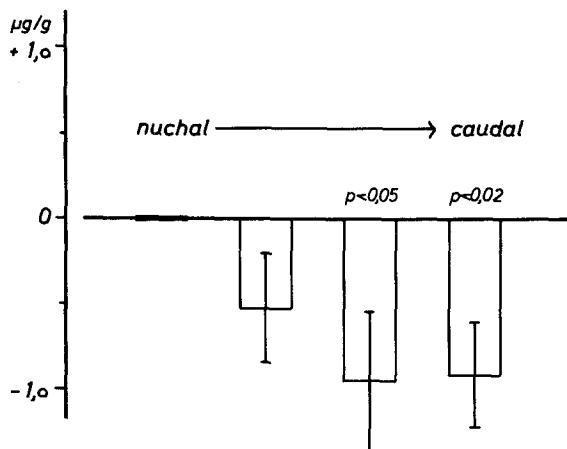


Abb. 1. Gehalt der unverletzten Meerschweinchenhaut an freiem Histamin. Differenz zwischen nuchalen und caudalen Hautproben.  $\bar{x} \pm s\bar{x}$ ;  $n = 10$

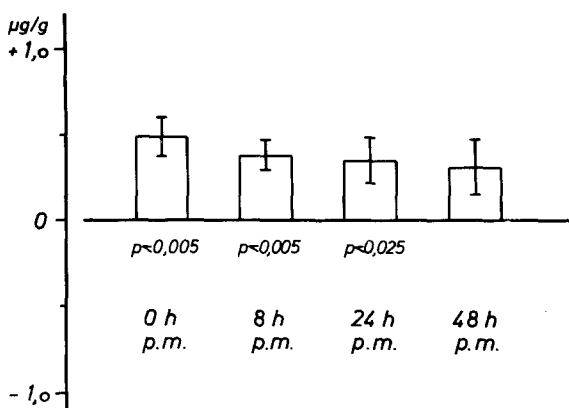


Abb. 2. Postmortales Verhalten der 5-HT-Differenz in Wunde und unverletzter Haut. Positive Werte = Überschuß im Wundgebiet; negative Werte = Defizit im Wundgebiet;  $\bar{x} \pm s\bar{x}$ ;  $n = 12$

## 2. Postmortale Veränderungen des Gehaltes an „freiem“ 5-HT und Histamin in der unverletzten Haut und im Wundrand

Zwölf Meerschweinchen wurden zwei Stunden nach Applikation einer Schnittverletzung der Rückenhaut durch Nackenschlag getötet. Die Hautproben wurden 0, 8, 24 und 48 Stunden post mortem entnommen, wobei die Reihenfolge nuchal – sacral nach dem Zufallsprinzip gewechselt wurde.

Wie aus Abb. 2 zu entnehmen ist, zeigte die Wundhaut gegenüber der unverletzten Kontrollhaut bis 24 Std. p.m. einen signifikant erhöhten 5-HT-Gehalt. Aus dem leichten Absinken dieser positiven 5-HT-Bilanz in der Wunde könnte man auf einen langsamen 5-HT-Abbau schließen. Die Korrelationsanalyse zeigt aber ( $r = +0,138$ ; 48 Wertepaare), daß eine negative Abhängigkeit zwischen Zeit und 5-HT-Gehalt nicht vorliegt. Ferner wurden für jedes Tier die direkt nach dem Tode ermittelten Werte sowohl für

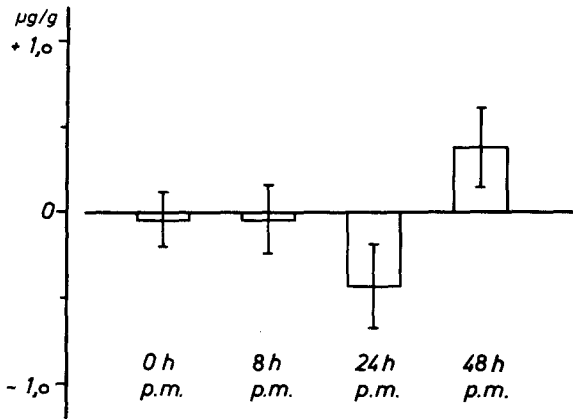


Abb. 3. Postmortales Verhalten der Differenz an freiem Histamin in Wunde und unverletzter Haut. Positive Werte = Überschuß im Wundgebiet; negative Werte = Defizit im Wundgebiet;  $\bar{x} \pm s\bar{x}$ ;  $n = 12$

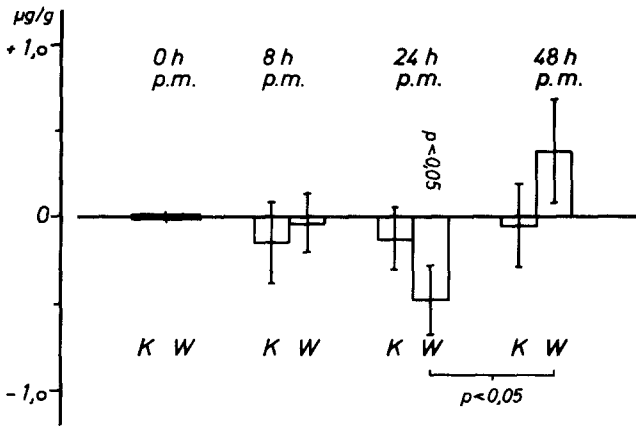


Abb. 4. Postmortal sich entwickelnde Abweichungen von dem zum Todeszeitpunkt bestimmten freien Histamingehalt in Kontroll- (K) und Wundhaut (W). Der sofort postmortal bestimmte freie Histamingehalt wurde gleich Null gesetzt. Positive Werte = postmortaler Histaminzuwachs; negative Werte = postmortaler Histaminverlust;  $\bar{x} \pm s\bar{x}$ ;  $n = 12$

die Wundhaut als auch für die Kontrollhaut gleich Null gesetzt und die später gefundenen 5-HT-Gehalte als Differenz zu dem direkt postmortal gemessenen Ausgangswert aufgetragen. Weder in der unverletzten Haut noch im Wundgebiet konnten größere Abweichungen beobachtet werden, so daß man sagen kann, daß postmortale Veränderungen des 5-HT-Gehaltes nicht nachweisbar waren. Im Einzelfall wird man aber wohl mit Aussagen über die Möglichkeit postmortaler Schwankungen zurückhaltender sein müssen, da besonders im Wundgebiet für die Werte größere Streuungen beobachtet wurden.

Zu fragen blieb, ob diese Verhältnisse auch auf andere Tierespecies zu übertragen sind, daher wurden in der gleichen Versuchsanordnung Ratten eingesetzt. Eine signifikante Erhöhung des 5-HT-Gehaltes war in dieser Versuchsanordnung nicht nachweisbar. Bei der anschließenden Prüfung auf postmortale Veränderungen gingen wir wie folgt vor:

Wie bei den Meerschweinchenversuchen wurden für jedes Tier die sofort nach dem Tode ermittelten Werte gleich Null gesetzt und die nachfolgenden 5-HT-Gehalte als Differenz zu diesem Ausgangswert aufgetragen. Dabei verhielt sich der 5-HT-Gehalt in der Kontrollhaut wie in der Wunde annähernd gleich. In beiden Fällen wurde mit zunehmender Leichenzeit ein 5-HT-Verlust beobachtet, der im Mittel  $0,5 \mu\text{g}$  betrug.

Man kann daher wohl für Versuche an der Ratte einen postmortalen 5-HT-Schwund in Wunde und Vergleichshaut nicht ganz ausschließen.

Weiterhin prüften wir, ob und in welcher Art und Weise postmortale Schwankungen im *Histamingehalt* beim Meerschweinchen vorkommen. Die ermittelten Differenzen zwischen verletzter und unverletzter Haut (Abb. 3) zeigen, daß nach 24 Stunden ein Verlust in der Wundhaut eingetreten ist, dem bei 48 Stunden ein Anstieg folgt.

Ebenso sollte geprüft werden, ob diese Schwankungen nur die Wundhaut betreffen oder ob der Histamingehalt der unverletzten Haut ähnlichen Veränderungen unterworfen ist. Zu diesem Zweck wurden die direkt nach dem Tod ermittelten Histamingehalte sowohl der Kontroll- als auch der Wundhaut gleich Null gesetzt und die nachfolgenden Werte als Differenzen zu diesen Ausgangswerten ausgedrückt (Abb. 4). Dabei wird deutlich, daß der Histamingehalt der unverletzten Haut postmortal praktisch unverändert bleibt, während postmortaler Verlust und anschließende Neubildung nur die Wundhaut betreffen. Diese Aussagen haben nur für das Versuchskollektiv Gültigkeit; im Einzelfall wird man mit Aussagen über postmortale Schwankungen vorsichtig sein müssen, wie sich aus den großen Streubreiten ergibt.

## Diskussion

Die von uns gemessenen Werte des „freien“ Histamins zeigen eine näherungsweise Übereinstimmung mit den Literaturangaben über den Histamingehalt der Haut; Feldberg und Miles [15] und Johnson [20] geben für die Rückenhaut des Meerschweinchens  $1,5\text{--}4,2$  bzw.  $2,0\text{--}5,1 \mu\text{g/g}$  an, wir fanden im Mittel  $1,9 \mu\text{g/g}$ . Beim 5-HT-Gehalt dagegen ergeben sich Diskrepanzen. Parratt und West [25] und Boreus und Westerholm [6] berichten über 5-HT-Spiegel von  $0,02\text{--}0,18$  bzw.  $0,11 \mu\text{g/g}$ . Wir fanden im Mittel  $1,6 \mu\text{g/g}$ . Es ist anzunehmen, daß hier die unterschiedliche Methodik verantwortlich zu machen ist. Bei der Ratte fanden wir  $2,7 \mu\text{g/g}$ , was dem von Telford und West [32] und Brocklehurst et al. [7] angegebenen Werten für die Bauchhaut der Ratte ( $1,9$  bzw.  $0,66\text{--}1,56 \mu\text{g/g}$ ) nahe kommt.

Betrachtet man den Gehalt an „freiem“ Wirkstoff in unverletzten Hautproben, die in gleicher Höhe an beiden Rückenseiten des Meerschweinchens entnommen wurden, so lassen sich an den Kollektiv-Mittelwerten weder beim 5-HT noch beim Histamin systematische Abweichungen nachweisen. Beim Einzeltier kommen aber Differenzen bis zu  $0,65 \mu\text{g}$  beim 5-HT bzw.  $1,26 \mu\text{g}$  beim Histamin vor, was natürlich bei der Beurteilung des Wertes im Wundrand gegenüber der Kontrollhaut berücksichtigt werden muß.

Topische Unterschiede deuten sich auch an, wenn nuchal gelegene Hautproben mit mehr sacral entnommenen verglichen werden sollen. Hier macht sich, beim 5-HT weniger ausgeprägt, beim Histamin deutlicher, eine caudalwärtige Abnahme des mittleren Amingehaltes bemerkbar.

Daß große topische Differenzen im 5-HT- und Histamingehalt in verschiedenen Hautregionen möglich sind, zeigen bereits die in der Einleitung zitierten Zahlen. Damit verglichen scheinen die hier gefundenen mittleren Differenzen eher geringfügig.

**Tabelle 1.** 5-HT-Differenzen zwischen Wunde und unverletzter Haut; Wundalter: 2 Std., Leichenzeit: 0 Stunden

Nr.	1 + 0,26 $\mu\text{g/g}$	—
	2 + 0,84 $\mu\text{g/g}$	$p < 0,05$
	3 + 1,05 $\mu\text{g/g}$	$p < 0,01$
	4 + 0,30 $\mu\text{g/g}$	—
	5 + 0,10 $\mu\text{g/g}$	—
	6 + 0,11 $\mu\text{g/g}$	—
	7 + 1,25 $\mu\text{g/g}$	$p < 0,0025$
	8 + 0,86 $\mu\text{g/g}$	$p < 0,05$
	9 + 0,72 $\mu\text{g/g}$	$p < 0,05$
	10 + 0,38 $\mu\text{g/g}$	—
	11 + 0,01 $\mu\text{g/g}$	—
	12 + 0,05 $\mu\text{g/g}$	—
	$\bar{x}$ + 0,49	
$\pm$	$s_x$ 0,43	
$\pm$	$s_{\bar{x}}$ 0,12	
	$p < 0,005$	

**Tabelle 2.** Differenz an freiem Histamin zwischen Wunde und unverletzter Haut; Wundalter: 2 Std.; Leichenzeit: 0 Stunden

Nr.	1 + 0,44 $\mu\text{g/g}$	—
	2 - 1,08 $\mu\text{g/g}$	—
	3 + 0,09 $\mu\text{g/g}$	—
	4 + 0,18 $\mu\text{g/g}$	—
	5 - 1,10 $\mu\text{g/g}$	—
	6 + 1,14 $\mu\text{g/g}$	$p < 0,05$
	7 + 0,02 $\mu\text{g/g}$	—
	8 + 0,09 $\mu\text{g/g}$	—
	9 - 0,24 $\mu\text{g/g}$	—
	10 - 0,01 $\mu\text{g/g}$	—
	11 - 0,25 $\mu\text{g/g}$	—
	12 + 0,10 $\mu\text{g/g}$	—
	$\bar{x}$ - 0,05	
$\pm$	$s_x$ 0,60	
$\pm$	$s_{\bar{x}}$ 0,17	

Die Betrachtung von Versuchskollektiven verschleiert natürlich die Tatsache, daß im Einzelfall recht beträchtliche topische Differenzen vorkommen können. Da in der Rechtsmedizin ja immer Einzelfälle zur Begutachtung kommen, die mit den bisher gemachten Erfahrungen verglichen werden sollen, haben wir den Versuch unternommen, aus dem hier vorgelegten Zahlenmaterial eine statistische Voraussage abzuleiten, um festlegen zu können, wann und mit welcher Wahrscheinlichkeit der normale Streubereich zwischen rechter und linker Rückenhaut verlassen wird. Die Methode von Hahn [18] gestattet es, nach Bestimmung eben dieser physiologischen Streuung Grenzwerte für die einzelnen Wahrscheinlichkeitswerte festzulegen. So ergibt sich bei Anwendung dieser Methode auf das in Tabelle 1 und 2 angeführte Zahlenmaterial doch ein wesentlich differenzierteres Bild. In diesen Tabellen wird der 5-HT- bzw. Histamingehalt aus Schnittwunden mit dem der kontralateralen, unverletzten Haut verglichen. Bei Prüfung der einzelnen 5-HT-Werte der Tabelle stellt sich heraus, daß fünf der insgesamt zwölf Einzelwerte eine über den individuellen Streubereich herausgehende Erhöhung aufweisen (3 x  $p < 0,05$ ; 1 x  $p < 0,01$ ; 1 x  $p < 0,0025$ ), während die kollektive Prüfung der Differenzwerte auf Signifikanz gegen Null eine signifikante Erhöhung auf dem 0,5% Niveau anzeigte. Bei den Histaminwerten der Tabelle 2 hat die kollektive Prüfung zwar keine signifikante Veränderung gezeigt, trotzdem läßt der Wert 6 den Schluß auf eine signifikante Erhöhung zu ( $p < 0,05$ ).

Prinzipiell läßt sich diese Methode auch auf die menschliche Haut übertragen, wobei freilich nach den Ergebnissen von Ebel [8] zu berücksichtigen ist, daß hier nur sehr geringe Seiten- und regionale Schwankungen vorkommen, vielmehr hauptsächlich zwischen behaarten und unbehaarten Stellen Unterschiede auftreten. Wir glauben mit dem oben beschriebenen Verfahren einen Weg aufgezeigt zu haben, wie die an der Leiche im Einzelfall erhobenen Befunde einer statistischen Überprüfung unterzogen werden und somit an präziser Aussagekraft gewinnen können.

Die vorgelegten Befunde zur Frage der postmortalen Veränderung der Aminwerte zeigen, daß beim Meerschweinchen Schwankungen des 5-HT-Gehaltes sowohl in der



unverletzten Haut wie im Wundgebiet in den ersten 24–48 Stunden der Leichenzeit praktisch auszuschließen sind. Bei der Ratte macht sich eine leicht abfallende Tendenz des 5-HT-Gehaltes sowohl in der unverletzten Haut wie in der Wunde bemerkbar, woraus sich die Forderung nach möglichst frühzeitiger Probenentnahme ableiten ließe.

Beim Histamin dagegen sind die Verhältnisse wesentlich komplizierter. Während Fazekas und Viragos-Kis [12] an gekühlten menschlichen Leichen eine kontinuierliche Zunahme des Histamingehaltes der unverletzten Haut beobachten, konnten wir, ebenso wie Berg und Bonte [2] an menschlichem Leichenmaterial, die gleiche Beobachtung an der unverletzten Meerschweinchenhaut nicht machen. Im Wundgebiet wurde innerhalb der ersten 24 h p.m. eine Histaminverminderung nachweisbar. Man könnte daran denken, daß das im Wundgebiet vorhandene „freie Histamin“ während der frühen Leichenzeit abdiffundiert. Da in der unverletzten Haut weniger „freies Histamin“ vorliegt, kommt es dort zu geringfügigeren postmortalen Abnahmen. Nicht ganz verständlich erscheint, warum 5-HT sich unter gleichen Bedingungen nicht ähnlich verhalten sollte. Den bei 48 h p.m. beobachteten Wiederanstieg des Histamins im Wundgebiet wird man auf eine bakterielle Neubildung zurückführen müssen.

Für die Praxis ist zu folgern, daß Hautproben für die Feststellung einer vitalen Verletzung möglichst frühzeitig entnommen werden sollten, um postmortale Veränderungen ausschließen zu können. Bei längeren Leichenzeiten scheint es nach den hier vorgelegten Ergebnissen im Tierversuch günstiger, den 5-HT-Gehalt statt des Histaminspiegels zu bestimmen.

## Literatur

1. S. Berg: Die Altersbestimmung von Hautverletzungen. *Z. Rechtsmedizin* 70, 121–135 (1972)
2. S. Berg, W. Bonte: Praktische Erfahrungen mit der biochemischen Wundaltersbestimmung. *Beitr. Gerichtl. Med.* 28, 108–114 (1971)
3. S. Berg, J. Ditt, D. Friedrich, W. Bonte: Möglichkeiten der biochemischen Wundaltersbestimmung. *Dtsch. Zs. gerichtl. Med.* 63, 183–198 (1968)
4. S. Berg, J. Ditt, P. Kunze, G. Garbe: Beziehungen zwischen Histamingehalt und Aktivität der Histidindecaboxylase im Bereich von Hautverletzungen. *Z. Rechtsmedizin* 69, 26–40 (1971)
5. G. Bertaccini: Tissue 5hydroxytryptamine and urinary 5-hydroxyindole acetic acid after partial or total removal of the gastro-intestinal tract in the rat. *J. Physiol. (Lond.)* 153, 239–249 (1960)
6. L. O. Boréus, B. Westerholm: 5-hydroxytryptamine in the Schultz-Dale reaction. *Acta Physiol. Scand.* 56, 17–25 (1962)
7. W. E. Brocklehurst, J. L. Humphrey, W. L. M. Perry: Cutaneous antigen-antibody reactions in the rat. *J. Physiol. (Lond.)* 150, 489–500 (1960)
8. J. Ebel: Die individuelle und lokale Varianz des Histamingehaltes der Leichenhaut. *Diss. med.* Göttingen, 1972
9. V. D. Eisen, R. E. Ellis, C. W. M. Wilson: The effect of x-irradiation on tissue histamine in the rat. *J. Physiol. (Lond.)* 133, 506–519 (1956)
10. V. D. Eisen, C. W. M. Wilson: Effect of  $\beta$ -irradiation in skin histamine and vascular responses in the rat. *J. Physiol. (Lond.)* 136, 122–130 (1957)
11. I. G. Fazekas, E. Viragos-Kis: Der Gehalt der Erhängungsfurche an freiem Histamin als vitale Reaktion. *Dtsch. Z. gerichtl. Med.* 56, 250–268 (1965)
12. I. G. Fazekas, E. Viragos-Kis: Über den Gehalt der menschlichen Haut verschiedener Körperregionen an freiem und Gesamthistamin. *Dtsch. Z. ges. ger. Med.* 61, 107–116 (1967)
13. I. G. Fazekas, E. Viragos-Kis: Der Gehalt von Wunden an freiem Histamin als vitale Reaktion in Tierversuchen. *Zacchia* 45, 536–547 (1970)

14. I. G. Fazekas, E. Viragos-Kis: Der Gehalt verschiedener Verletzungen an freiem Histamin als Vitalreaktion. *Z. Rechtsmed.* **68**, 86–94 (1971)
15. W. Feldberg, A. A. Miles: Regional variations of increased permeability of skin capillaries induced by an histamine liberator and their relation to the histamine content of the skin. *J. Physiol. (Lond.)* **120**, 205–213 (1953)
16. W. Feldberg, J. Talesnik: Reduction of tissue histamine by compound 48/80. *J. Physiol. (Lond.)* **120**, 550–568 (1953)
17. J. H. Gaddum: Free and conjugated histamine, pp. 36–44. In: Ciba Foundation Symposium on Histamine; G. E. W. Wolstenholme, C. M. O'Connor (Ed.) London: Churchill 1956
18. G. J. Hahn: Finding an interval for the next observation from a normal distribution. *J. Quality Technol.* **1**, 168–171 (1969)
19. D. C. Hardwick: Age changes in the histamine content of rat skin. *J. Physiol. (Lond.)* **124**, 157–165 (1954)
20. H. H. Johnson Jr.: A microchemical method for the determination of histamine. *Arch. Derm.* **72**, 307–312 (1955)
21. H. H. Johnson Jr.: Variations in histamine levels in guinea pig skin related to skin region, age (or weight), and time after death of animal. *J. Invest. Derm.* **27**, 159–163 (1956)
22. H. W. Lilliefors: On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *JASA* **62**, 399–402, 1967
23. I. Mota, I. Vugman: Action of compound 48/80 on the mast cells and histamine content of guinea pig tissues. *Brit. J. Pharmacol.* **11**, 304–307 (1956)
24. A. Nilzen: Studies in histamine (H-substance). *Acta Derm. Venereol.* **XXVII**, Suppl. XVII (1947)
25. J. R. Parratt, G. B. West: 5-hydroxytryptamine and tissue mast cells. *J. Physiol. (Lond.)* **137**, 169–178 (1957)
26. J. R. Parratt, G. B. West: The relationship of 5-hydroxytryptamine to capillary permeability in the skin of the rat. *J. Physiol. (Lond.)* **140**, 105–112 (1958)
27. J. Raekallio: Estimation of the age of injuries by histochemical and biochemical methods. *Z. Rechtsmed.* **73**, 83–102 (1973)
28. J. Raekallio, P. L. Mäkinen: Serotonin content as vital reaction I. Experimental investigation. *Zacchia* **44**, 587–594 (1969)
29. J. Raekallio, P. L. Mäkinen: Serotonin and histamine contents as vital reactions. II. Autopsy studies. *Zacchia* **45**, 403–414 (1970)
30. J. F. Riley, G. B. West: Studies with a histamine liberator of low toxicity (Compound 48/80). *J. Path. Bact.* **69**, 269–282 (1955)
31. P. A. Shore, A. Burkhalter, V. H. Cohn: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **127**, 182–186 (1959)
32. J. M. Telford, G. B. West: The effect of corticosteroids and related compounds on the histamine and 5-hydroxytryptamine content of rat tissues. *Brit. J. Pharmacol.* **15**, 532–539 (1960)
33. E. R. Threthewie: Experiments on the problem of “free” and “bound” histamine and acetylcholine. *Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci.* **16**, 225–232 (1938)
34. S. Udenfriend, H. Weissbach, C. T. Clark: The estimation of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in biological tissues. *J. Biol. Chem.* **215**, 337–344 (1955)

Eingegangen am 23. Juni 1978