

Praktische Erfahrungen mit der Leichenalterbestimmung durch Auswertung bakterieller Stoffwechselprodukte* **

T. Daldrup

Institut für Rechtsmedizin der Universität Düsseldorf,
Moorenstraße 5, D-4000 Düsseldorf 1, Bundesrepublik Deutschland

Practical Experiences with the Determination of Postmortem Lapse Time by Evaluation of Bacterial Metabolism in Autopsied Human Brain

Summary. In an experiment a corpse had been kept at room temperature (16°–23° C) for 1163 h. At regular intervals brain samples were taken and the content of free amino acids and related compounds was determined by column chromatography. It could be demonstrated that in a period of 4–20 days postmortem the age of the corpse could be calculated from the concentrations of α -aminobutyrate (ABU), γ -aminobutyrate (GABA), and glutamic acid (GLU) in brain employing the previously [5] presented formula:

$$T \sim \ln \left(\frac{ABU + GABA}{GLU} + 1 \right).$$

T is the postmortem time lapse (days). ABU, GABA, and GLU are the concentrations ($\mu\text{mol/g}$) wet tissue of the corresponding amino acids. During this postmortem interval there is nearly a linear correlation; from this interval a correct assignment between concentrations and time cannot be given. The determination method is in the range of about 15°–25° C (guarantees bacterial growth and metabolism) independent of ambient temperature. The brain samples (cortex or parts of the putrified brain mush) can be taken without any special precaution during normal autopsy. The results of the experiment (● in Fig. 1) were supported by some practical cases where the time lapse since death was well (▲ in Fig. 1) or reasonably (○ in Fig. 1) known. These results suggest that this method allows in many cases the determination of the age of a corpse found in a warm environment ($\sim 15^\circ\text{--}25^\circ\text{C}$) approximately 4–20 days after death.

Key words: Time of death, amino acids – Human postmortem brain, putrefaction, bacterial metabolism

Zusammenfassung. In einem Versuch wurde eine Leiche bei Raumtemperatur (Schwankungsbereich 16–23°C) insgesamt 1163 h aufbewahrt. In regelmäßigen Abständen wurden Gehirnproben entnommen und die Amino-

* Herrn Prof. Dr. F. Schleyer zum 70. Geburtstag gewidmet

** Auszugsweise vorgetragen auf der 61. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin in Würzburg, 21. bis 25. 9. 1982

säuren säulenchromatographisch bestimmt. Mit diesem Versuch konnte gezeigt werden, daß in der Zeit zwischen ca. 4 und 20 Tagen postmortem das Leichenalter aus den Konzentrationen der bakteriellen Stoffwechselprodukte α -Aminobuttersäure (ABU), γ -Aminobuttersäure (GABA) und Glutaminsäure (GLU) sich nach der bereits früher vorgestellten Formel [5]:

$$\text{Leichenalter } T \sim \ln \left(\frac{\text{ABU} + \text{GABA}}{\text{GLU}} + 1 \right)$$

errechnen läßt. Der Versuch hat gezeigt, daß im Zeitraum von 4–20 Tagen eine quasi lineare Abhängigkeit besteht. Oberhalb und unterhalb dieser Zeiträume ist eine genaue Zuordnung wegen des flachen Kurvenverlaufs nicht möglich. Die Bestimmung des Leichenalters ist im Bereich von ca. 15–25°C unabhängig von der exakten Umgebungstemperatur. Als Untersuchungsmaterial wird Gehirn – in der Regel aliquote Teile des Gehirnbreis, sonst Rindenbezirk – benötigt, welches ohne besondere Vorkehrungen während der Sektion entnommen werden kann. Die Ergebnisse des Leichenexperimentes wurden durch einige Beispiele aus der Praxis untermauert, so daß davon ausgegangen werden kann, daß in vielen Fällen mit dieser Methode das Leichenalter in der später postmortalen Phase bestimmt werden kann.

Schlüsselwörter: Faulendes Leichengehirn, Aminosäurenbestimmung – Todeszeitbestimmung, bakterielle Stoffwechselprodukte

Einleitung

Zu den typischen Stoffwechselprodukten bestimmter Clostridien gehören die Aminosäuren ABU, GABA und AVA (δ -Aminovalerinansäure) [1]. Während im menschlichen Organismus GABA insbesondere im zentralen Nervensystem in hoher und ABU in niedriger Konzentration vorliegt, konnte AVA bisher nicht nachgewiesen werden [2]. Der Konzentrationsanstieg dieser drei Aminosäuren in einem Leichenorgan kann somit als ein sicheres Indiz für den Befall mit bestimmten Bakterien gelten. Entsprechende mikrobiologische Untersuchungen des Leichengehirns haben gezeigt, daß die regelmäßig zu beobachtende Bildung dieser Aminosäuren durch bestimmte Clostridien verursacht wird [3]. Diese beweglichen Anaerobier gehören zu den wenigen Bakterien, die vom Darmtrakt kommend [4], in angemessener Zeit das Leichengehirn erreichen. Da das Gehirn aufgrund zahlreicher Schutzmechanismen nur geringe individuelle Schwankungen im Gehalt an freien und gebundenen Aminosäuren aufweist [10] und dieses Organ in der Leiche isoliert vorliegt, ist es wie kein anderes geeignet, um über den bakteriellen Stoffwechsel das Leichenalter in der späten postmortalen Phase zu bestimmen.

Wie bereits früher berichtet, scheint ein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration von ABU, GABA und Glutaminsäure (GLU) und dem Leichenalter (T) gemäß der mathematischen Formulierung

$$T \sim \ln \left(\frac{\text{ABU} + \text{GABA}}{\text{GLU}} + 1 \right)$$

zu bestehen [5]. Dieser Zusammenhang wurde in einem Leichenversuch sowie anhand von Fällen aus der Praxis überprüft.

Material und Methoden

Leichenversuch

Die Leiche einer 81 Jahre alt gewordenen, abgemagerten Frau (Gewicht geschätzt 40–45 kg), die uns das anatomische Institut der Universität Düsseldorf dankenswerterweise zur Verfügung gestellt hatte, wurde bei Raumtemperatur (Schwankungsbereich 16–23°C) unbedeckt aufbewahrt. Die Temperatur und Luftfeuchtigkeit des Versuchsaumes wurden kontinuierlich registriert.

Versuchsbeginn: 13,6 h pm, Versuchsende: 1181,25 h pm.

Die Gehirngewebesenahme erfolgte in zeitlichen Abständen mit einer vorher sterilisierten Nadel, nach einem bereits erwähnten Verfahren [3].

Gehirnuntersuchung

Die freien Aminosäuren wurden nach Enteiweißung säulenchromatographisch nach einem bereits beschriebenen Verfahren bestimmt [6].

Leichenalterbestimmung

Die Konzentrationen ($\mu\text{mol/g}$ Feuchtgewicht) der freien ABU, GABA und GLU wurden in den mathematischen Ausdruck

$$\ln\left(\frac{\text{ABU} + \text{GABA}}{\text{GLU}} + 1\right)$$

eingesetzt und die so erhaltene dimensionslosen Größen gegen das Leichenalter (T) in Tagen grafisch aufgetragen (● in Abb. 1)

Leichenalterbestimmung in praktischen Fällen

Gehirne von faulenden Leichen, deren Alter ganz genau (in der Regel nach längerer Zeit entdeckte Gewaltverbrechen) bekannt waren (▲ in Abb. 1) und die bei Temperaturen im Bereich von 15–25°C (genaue Temperaturangabe nicht nötig) im Freien oder in geschlossenen Räumen mehrere Tage gelegen haben, wurden wie oben aufgearbeitet und untersucht. Die Gehirnproben (3–5 g) wurden ohne besondere Vorkehrungen während der Sektion entnommen. Falls noch vorhanden, wurde ein Stück des Rindenbezirkes (graue und weiße Substanz gemischt) ansonsten aliquote Teile des Gehirnbreies sichergestellt und bis zur Untersuchung tiefgekühlt (–18°C) bzw. im gefriergetrockneten Zustand aufbewahrt.

Da die Anzahl der längere Zeit bei Raumtemperatur gelegenen Leichen mit genau bekanntem Alter sehr begrenzt waren, wurden auch solche mit aufgeführt, für die aufgrund der kriminalistischen Ermittlungen der Todeszeitpunkt näher eingegrenzt werden konnte (○ in Abb. 1).

Die Festlegung des Zeitbereiches, in dem der Tod eingetreten sein kann, wird um so ungenauer, je länger die Leiche gelegen hat, so daß auch bei diesen Todesfällen die Anzahl begrenzt ist.

Ergebnisse

Fäulnisveränderungen

Der Leichenversuch konnte 13,6 h – bis zu diesem Zeitpunkt wurde die Leiche kühl aufbewahrt – nach Eintritt des Todes beginnen.

Im Zeitraum bis zu 30 h pm waren die Grünverfärbungen auf den Unterbauchbereich begrenzt. Nach ca. 55 h pm zeigten sich deutliche Grünverfärbungen im Rippenbereich. Die Leiche blähte sich langsam auf. Flüssigkeit sammelte sich in abhängenden Partien an. Sechzig Stunden pm zeigten sich im Kopf-

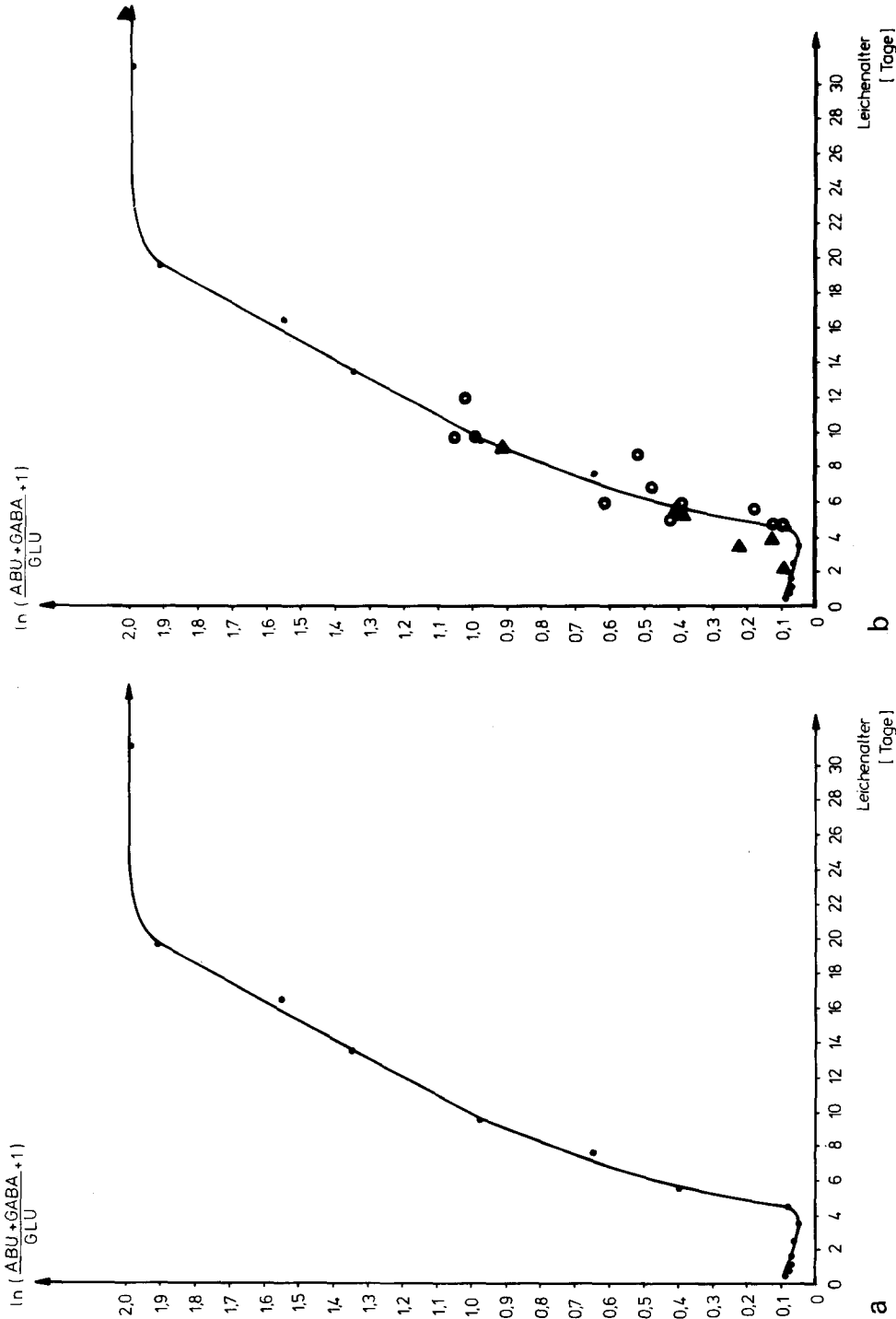


Abb. 1. a Zusammenhang zwischen Leichenalter und Leichenalterfaktor, berechnet aus den Konzentrationen von ABU, GABA und GLU. Ergebnisse des Leichenversuches. **b** Zusammenhang zwischen Leichenalter und Leichenalterfaktor, berechnet aus den Konzentrationen von ABU, GABA und GLU. Symbole: Leichenversuch (●), praktische Beispiele mit sehr genau (○) bzw. relativ genau (▲) ermitteltem Leichenalter

Tabelle 1. Konzentrationen der Aminosäuren ABU, GABA, GLU und AVA in Abhängigkeit vom Leichenalter und Berechnung des Leichenalterfaktors

Leichen- alter (Tage)	Konzentration ($\mu\text{mol/g}$ Feuchtwicht)				Faktor $\ln\left(\frac{\text{ABU} + \text{GABA}}{\text{Glu}} + 1\right)$
	ABU	GABA	GLU	AVA	
0,57	0,08	0,53	6,58	0	0,09
0,83	—	0,68	7,68	0	0,08
1,24	0,07	0,60	9,18	0	0,07
1,60	0,12	0,60	9,45	0	0,07
2,53	0,13	0,61	12,58	0	0,06
3,45	0,08	0,50	11,07	0	0,05
4,53	0,18	1,04	13,89	0	0,08
5,60	0,43	5,98	13,15	1,87	0,40
8,50	0,60	11,63	10,88	5,60	0,75
9,50	0,62	12,99	8,37	4,91	0,97
13,60	1,22	17,69	6,58	17,98	1,35
16,30	1,68	18,64	5,47	16,12	1,55
19,60	2,80	25,80	4,95	20,60	1,91
30,50	3,41	31,60	5,56	23,59	1,99
35,50	3,62	33,12	5,97	25,67	1,97
49,20	3,33	32,10	6,53	23,46	1,86

bereich (Mund, Hals) inselartige Grünverfärbungen. Das Gehirn war noch normal verfärbt. Nach 80 h pm zeigte sich schnell fortschreitende Fäulnis mit starker Fäulnisgasentwicklung. Der gesamte Oberkörper war bereits fäulnisverfärbt.

Auch in den nächsten 36 h wurden äußerlich starke Fäulnisveränderungen beobachtet. Ab dann bis ca. 300 h pm waren äußerlich nach Auswertung entsprechenden Filmmaterials keinerlei Veränderungen mehr feststellbar. Nach 330 h bis Versuchsende tritt Fäulnisflüssigkeit aus, es konnten insgesamt 10 l aufgefangen werden.

Gehirnuntersuchungen

Die Ergebnisse der Gehirnuntersuchung sind in Abb. 1 und Tabelle 1 zusammengestellt.

Nach einer Latenzzeit von 4 Tagen (reine Autolysezeit), die vergehen, bis die Darmbakterien das Gehirn erreichen und sich typische Stoffwechselprodukte bilden, steigt der Quotient aus den drei Aminosäuren stetig in Abhängigkeit vom Leichenalter bis ca. zum 20. Tag pm an und erreicht hier asymptotisch einen Maximalwert.

Wir beobachteten demnach einen dreiphasigen Verlauf der postmortalen Gehirnzersetzung:

1. Phase (0–4 Tage, Autolyse des Gehirns): Invasion der anaeroben Darmbakterien (u. a. Clostridien).

2. Phase (4–20 Tage): Bakterielle Zersetzung (Fäulnis) des Gehirns und Bildung typischer Stoffwechselprodukte.

3. Phase (ab 20. Tag): Wahrscheinlich Substraterschöpfung und bakterielle Wachstumsreduzierung.

Das Leichenalter läßt sich während der 2. Phase in Korrelation zu den bakteriellen Stoffwechselprodukten setzen, so daß für den Zeitraum von ca. 4–20 Tagen eine gute Schätzung des Leichenalters möglich wird. Dies bestätigen auch die Ergebnisse der in Abb.1 enthaltenen praktischen Beispiele, für die genaue bzw. relativ genaue Todeszeiten bekannt sind.

Diskussion

Zur Bestimmung der Todeszeit an einer stark fäulnisveränderten Leiche können die klassischen Verfahren – Totenstarre, Leichenflecke und Auskühlung – in der Regel nicht mehr herangezogen werden.

Zur Eingrenzung der Liegezeit werden Erfahrungswerte über äußerliche Veränderungen an der Leiche [7, 8] bzw. Sekundärreaktionen wie z. B. Algenwachstum bei Wasserleichen [9] herangezogen. Ein allgemeines Verfahren zur Eingrenzung der Todeszeit im Bereich von 4–20 Tagen von Leichen, die in warmer Umgebung (ca. 15–25°C) gelegen haben, ist bisher nicht beschrieben worden.

Nach den bisherigen Erfahrungen kann die hier beschriebene leicht durchführbare Untersuchung des Leichengehirns auf bakterielle Stoffwechselprodukte diese Lücke in vielen Fällen schließen. Aufgrund der Wahl der Parameter und der mathematischen Transformation ist die Kenntnis der genauen Lagerungstemperatur nicht notwendig, vorausgesetzt, daß die Leiche nicht zu kühl (unter 15°C) gelegen hat, so daß ein bakterieller Mindestumsatz garantiert ist. In der Regel reduziert sich der bakterielle Stoffwechsel auf ein Minimum, wenn die Leiche bei 4°C gelagert wird, so daß die Probenentnahme ohne besondere Vorkehrungen während des normalen Sektionsablaufes erfolgen kann.

Literatur

1. Mead GC (1971) The amino acid-fermenting clostridia. *J Gen Microbiol* 67 : 47–56
2. Bremer HJ, Duran M, Kamerling JP, Przyrembel H, Wadman SK (1981) Disturbances of amino acid metabolism: clinical chemistry and diagnosis. Urban & Schwarzenberg, München Baltimore
3. Daldrup T, Hagedorn HJ, Körfers M (1982) Mikrobiologische Untersuchung frischer und faulender Leichengehirne. *Beitr Gerichtl Med* 40 : 379–382
4. Helmke K (1938) Anaerobenbefunde im Leichenblut. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 303 : 297–302
5. Daldrup T (1979) Die Bedeutung der Bildung von α - und γ -Aminobuttersäure während der Fäulnis von eiweißhaltigem menschlichem Organmaterial. Eine Möglichkeit der Todeszeitbestimmung? *Beitr Gerichtl Med* 37 : 281–284
6. Daldrup T (1981) Zur Kinetik des postmortalen bakteriellen Glutaminsäurestoffwechsels im Gehirn. *Z Rechtsmed* 86 : 195–203
7. Schneider V, Riese R (1980) Fäulnisveränderungen an Leichen. Ein Beitrag zur Todeszeitbestimmung. *Kriminalistik* 34 : 297–299

8. Reh H, Haarhoff K, Vogt CD (1977) Die Schätzung der Todeszeit bei Wasserleichen. *Z Rechtsmed* 79 : 261-266
9. Harada H, Nii H (1981) Growth of saprolegnia on drowned corpses and postmortem lapsed time. *Acta Crim Japon* 47 : 30-37
10. Roberts E, Simonsen DG (1962) Free amino acids in animal tissue. In: Holden JT (ed) *Amino acid pools*. Elsevier, Amsterdam, pp 284-349

Eingegangen am 20. September 1982