

Veränderungen in der Menge des Prostaglandins $F_{2\alpha}$ bei Schnittwunden der Haut mit verschiedener Zeitdauer ihres Bestehens

I. Lasarov¹, S. Franzova² and T. Russeva³

¹Lehrstuhl für Gerichtsmedizin am Medizinischen Hochschulinstitut in Varna, Marin Drinov Strasse 55, 9002 Varna, Bulgarien

²Spezialisiertes Biochemielabor bei der Direktion „Gesundheitswesen“ in Varna, Marin Drinov Strasse 55, 9002 Varna, Bulgarien

³Lehrstuhl für Röntgenologie und Radiologie am Medizinischen Hochschulinstitut in Varna, Marin Drinov Strasse 55, 9002 Varna, Bulgarien

Changes of the Prostaglandin $F_{2\alpha}$ Quantity with Cut Skin Wounds of Different Time Intervals

Summary. A radioimmunological method is presented for the determination of the quantity of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in cut wounds on the skin of guinea pigs. Rapidly increasing quantities of prostaglandin $F_{2\alpha}$ can be found in skin cuts, and the level reaches 71 ng/g within the 1st hour after the injury. In the postmortem period, the quantities calculated in the cuts while the animals were still alive gradually decreased and reached a value of 17 ng/g in the 6th h after death. In postmortem cuts, inflicted in the 8th h after death, the prostaglandin was 14–18 ng/g. In later postmortem cuts the quantity was about 9–10 ng/g. Establishing the dynamics of the quantitative changes permits investigation of the prostaglandin to be used to certify whether the victim was alive or not, as well as when the skin damage was inflicted.

Key words: Skin-cut wounds – Radioimmunoassay of prostaglandin $F_{2\alpha}$ – Prostaglandin $F_{2\alpha}$ vitality – Time interval after injury

Zusammenfassung. Beschrieben wird eine radioimmunologische Methode zum Nachweis der Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -Menge in Schnittwunden der Haut von Meerschweinchen. Bei zu Lebzeiten zugefügten Hautverletzungen finden sich schnell ansteigende Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -Mengen, die 1 Stunde nach der Verletzung bis 71 ng/g erreichen. Nach der Tötung der Tiere sinken die konstatierten Mengen in zu Lebzeiten gesetzten Wunden allmählich ab und erreichen in der 6. Std nach dem Tode 17 ng/g. In postmortal zugefüg-

ten Verletzungen, die spätestens bis zur 8. Std nach dem Tode gesetzt wurden, findet man eine Menge des untersuchten Prostaglandins in Höhe von etwa 14–18 ng/g. In späteren postmortalen Wunden beträgt die Menge dieses Prostaglandins etwa 9–10 ng/g. Die Unterschiede erlauben es, die Untersuchung des Prostaglandins F_2 α zum Beweis dafür anzuwenden, ob eine Hautwunde zu Lebzeiten zugefügt wurde und wieviel Zeit danach vergangen ist.

Schlüsselwörter: Schnittwunden der Haut – Radioimmunologische Untersuchung von Prostaglandin F_2 α -Vitalitätsbeweis bei Wunden – Wundalterbestimmung

Die Prostaglandine sind biologisch aktive Verbindungen, die an einer Reihe physiologischer und pathologischer Prozesse im menschlichen Organismus beteiligt sind. Wie Bergström und Carlson (1965) bemerken, sind es keine Hormone, haben aber hormonähnlichen Effekt. Sie zeigen ihre Wirkung schon in sehr geringen Konzentrationen und in unmittelbarer Nähe oder direkt in den Geweben, wo sie synthetisiert wurden. Die Untersuchungen von Piper und Vane (1969, 1971) gaben den Grund zu der Annahme, daß es in den Geweben keine Depots von bereits gebildeten Prostaglandinen gibt. Sie werden synthetisiert de novo. Unter der Einwirkung verschiedener Faktoren (hormonaler, nervöser, mechanischer) kommt es durch teilweise Zerstörung der Zellmembran zu einem Freiwerden der essentiellen Fettsäuren aus ihren Estern mit nachfolgender Bildung von Prostaglandinen (Bergström et al. 1959; Horton 1969). Wenn man den Mechanismus ihrer Entstehung berücksichtigt, so wird die Menge und Dauer ihres Vorhandenseins von der Art und Dauer der Einwirkung zellfremder Stimulationen abhängen. Die mechanische Hautverletzung mit Zerstörung der Zellmembranen einer Vielzahl von Zellen ist ein starkes Stimulans für die plötzliche und schnelle Prostaglandinbildung im Wundgebiet.

Gleichzeitig wurde hiermit konstatiert, daß die Prostaglandine zu den ersten Mediatoren eines Entzündungsprozesses gehören. Sie sind Vermittler der entzündlichen Reaktion (Vane 1976; Johnston et al. 1979; Ward 1979). In dieser Eigenschaft stimulieren die Prostaglandine die schnelle Entwicklung des Entzündungsprozesses im Wundgebiet. Der Entzündungsprozeß selbst, mit seiner mannigfachen Einwirkung auf die Zellen im Gebiet der Verletzung, schafft seinerseits die Voraussetzungen für die Prostaglandinsynthese. Aus der Dynamik der quantitativen Veränderungen der Prostaglandine im Wundgebiet ist zu entnehmen, ob eine Hautverletzung zu Lebzeiten verursacht wurde und wieviel Zeit danach vergangen ist. Wissenschaftliche Veröffentlichungen, die sich mit der Lösung solcher Aufgaben in der gerichtsmedizinischen Praxis durch Untersuchung der quantitativen Prostaglandinveränderungen in Hautwunden befassen, haben wir in der einschlägigen Literatur nicht gefunden. Bekannt ist, daß morphologische Veränderungen im Verletzungsherd gewisse Angaben zur Bestimmung der Zeitdauer der bestehenden Verletzung nach verhältnismäßig späten Zeitabschnitten (Stunden, Tage) liefern (Raekallio 1961, 1964, 1965; Friebe und Woohsmann 1968; Buris 1978; Lindner 1969; Prokop und Göhler

1975). Untersuchungen über die Konzentrationen der freien biogenen Amine (Histamin, Serotonin) im Wundgebiet zeigen ebenfalls erst relativ spät Veränderungen (Stunden) (Fazekas und Viragos 1965; Raekallio 1966; Berg et al. 1968, 1971, 1978; Berg 1972; Sedlarik 1984). Lediglich Berg et al. (1971) fanden insignifikante Veränderungen nach kürzerer Zeit.

Angesichts der beschriebenen Eigenschaften der Prostaglandine stellten wir uns das Ziel, die quantitativen Veränderungen des Prostaglandins F_2 alpha im Wundgewebe zu verschiedenen Zeitpunkten bei zu Lebzeiten und nach dem Tode gesetzten Verletzungen zu untersuchen.

Material und Methoden

Nach vorherigem Kürzen der Fellhaare auf dem Rücken in der Nähe des Halses wurden bei 70 Meerschweinchen mit einem scharfen Gegenstand Schnittwunden von 10 cm Länge gesetzt. Von der Schnittfläche dieser Wunden wurde 200 mg Hautgewebe entnommen, und zwar sofort nach der Verwundung, in der 10., 20., 30. und 60. Min und in der 2., 4., 8., 12., und 24. Std nach der Verwundung, wobei die Tiere auf scharfe Art und Weise in Serien unmittelbar nach Entnahme der Hautprobe getötet wurden. Anschließend wurde von der Schnittfläche der Wunden die gleiche Menge Hautgewebe jede Stunde bis zur 6. Std entnommen, ebenso in der 8., 12. und 24. Std nach Dekapitation. Unmittelbar vor der Tötung der Tiere wurde 3 cm rechts, parallel und symmetrisch zur ersten Wunde mit einem scharfen Gegenstand eine weitere Schnittwunde von 2 cm Länge gesetzt. Von der Schnittfläche dieser Wunde wurde 200 mg Hautgewebe entnommen.

Eine Serie von 20 Meerschweinchen wurde durch Erwürgen getötet. Nach vorherigem Kurzschneiden des Felles auf dem Rücken unweit des Halses wurden dort mit einem scharfen Gegenstand Schnittwunden von 2 cm Länge mit obengenannter Tiefe angebracht, und zwar jede Stunde bis zur sechsten, und danach in der 8., 12. und 24. Std nach der Tötung. Unmittelbar nach jeder Schnittsetzung wurde von der Schnittfläche 200 mg Hautgewebe entnommen.

Danach wurden alle entnommenen Hautproben von der Wundfläche biochemisch und radioimmunologisch zur Bestimmung der Prostaglandin F_2 alpha-Menge, die von Caldwell et al. (1971) empfohlen wurde, untersucht. Diese Methode beruht auf dem klassischen Prinzip der radioimmunologischen Analyse auf der Grundlage der „Antigen-Antikörper-Reaktion“, deren Intensität durch einen radioisotopen Indikator bestimmt wird. Wir benutzten einen vom Isotopeninstitut der Akademie der Wissenschaften in der Ungarischen Volksrepublik hergestellten radioimmunologischen Test, bei dem Prostaglandin F_2 alpha mit Jod^{125} angegeben wird. Nach der Separation der freien von den mit den Antikörpern gebundenen radiochemischen Indikatoren durch Dextranskohle, zählten wir die einzelnen radioaktiven Impulse für die beiden untersuchten Fraktionen mit einem Gammarameter aus.

Ergebnisse

In dem Hautgewebe, das von Schnittwunden lebender Meerschweinchen unmittelbar nach der Verursachung entnommen wurde, fand sich ein Mittelwert des Prostaglandins F_2 alpha = 20.032 ng/g. In dem Hautgewebe, das gleichzeitig aus der gleichen Wunde entnommen und bei Zimmertemperatur 30 bzw. 60 Min vor Beginn der von uns angewandten Methode (Caldwell et al. 1971) aufbewahrt wurde, war ein Mittelwert des Prostaglandins F_2 alpha = 47.016 ng/g bzw. = 70.267 ng/g festzustellen.

In dem Hautgewebe, das der Hautwunde eines lebenden Meerschweinchens 10 Min nach der Verletzung entnommen worden war, fand sich ein Mittelwert

Tabelle 1. Werte des Prostaglandins $F_{2\alpha}$ nach Hautverletzung bei lebenden Meerschweinchen in Dynamik (in ng/g)

Werte des Prostaglandins	im Moment der Verletzung	Zeit nach der Verletzung (in Min)			
		10	20	30	60
1. Mittelwert (\bar{x})	20,032	43,616	45,4514	47,066	71,991
2. Auma der Abweichung vom Mittelwert ($\pm \sigma$)	7,815	13,115	5,4583	23,873	7,990
3. Durchschnittlicher Fehler des Mittelwerts ($\pm m$)	1,895	5,865	2,063	10,676	2,527

Tabelle 2. Werte des Prostaglandins $F_{2\alpha}$ nach Verletzung und Tötung der Tiere in Dynamik (in ng/g)

Werte des Prostaglandins	im Moment der Verletzung und des Todes	Zeit nach der Tötung (in Std)			
		1	2	3	4
1. Mittelwert (\bar{x})	20,032	23,438	20,711	18,568	16,75
2. Auma der Abweichung vom Mittelwert ($\pm \sigma$)	7,815	2,182	2,400	1,961	2,416
3. Durchschnittlicher Fehler des Mittelwerts ($\pm m$)	1,895	0,825	0,907	0,741	0,913

des Prostaglandins $F_{2\alpha} = 43.616$ ng/g. Wie in Tabelle 1 dargestellt ist, steigen in den Geweben von Schnittwunden, die bei lebenden Meerschweinchen 20, 30 und 60 Min nach ihrer Verursachung entnommen wurden, die Mittelwerte des Prostaglandins mit signifikanten Unterschieden an und erreichen in der 60. Min 71.991 ng/g. In der 4. Std wurde in diesem Kollektiv ein Prostaglandin-Mittelwert von 100 ng/g festgestellt, der bis zu 24 Std bestehen blieb.

In dem Hautgewebe, das 1 Std nach der Tötung des Meerschweinchens, das unmittelbar vor dem Tode verletzt worden war, entnommen wurde, fand sich ein Mittelwert des untersuchten Prostaglandins von 23.438 ng/g. Wie in Tabelle 2 zu sehen ist, sinken danach die Mittelwerte der Prostaglandinmengen ab, um nach 4 Std. 16.75 ng/g zu erreichen. Dieser Wert findet sich auch nach 24 Std in diesem Kollektiv.

Tabelle 3. Werte des Prostaglandins F_{2 alpha} post mortem nach noch zu Lebzeiten zugefügter Verletzung der Haut bei Meerschweinchen in Dynamik (in ng/g)

Werte des Prostaglandins	Zeit nach der Tötung (in Std)					
	1	2	3	4	5	6
1. Mittelwert (\bar{x})	71,991	64,078	38,982	25,841	24,31	23,784
3. Ausmaß der Abweichung vom Mittelwert ($\pm \sigma$)	7,990	16,867	4,24	4,014	2,268	2,746
3. Durchschnittlicher Fehler des Mittelwerts ($\pm m$)	2,527	7,543	1,602	1,517	0,857	1,038
	P < 0,05					
	P < 0,001					
	P < 0,001					
	P < 0,001					
	P < 0,001					

Tabelle 4. Werte des Prostaglandins F_{2 alpha} bei postmortalen Verletzungen der Haut von Meerschweinchen in Dynamik (in ng/g)

Werte des Prostaglandins	Zeit der Verletzung nach dem Tode (in Std)					
	1	2	8	12	24	
1. Mittelwert (\bar{x})	20,032	18,027	16,676	14,991	12,896	9,152
2. Ausmaß der Abweichung vom Mittelwert ($\pm \sigma$)	7,815	6,154	6,020	3,202	2,809	3,015
3. Durchschnittlicher Fehler des Mittelwerts ($\pm m$)	1,895	1,645	1,738	1,132	0,993	1,066
	P > 0,05					
	P > 0,05					
	P > 0,05					
	P < 0,05					
	P < 0,001					

Eine ähnliche Tendenz des Absinkens der Prostaglandin-Mittelwerte nach Todeseintritt fand sich auch bei den Tieren, die 10, 20 und 30 Min die Verletzung überlebt hatten.

Aus Tabelle 3 geht hervor, daß in dem Gewebe von Wunden mit einstündiger Überlebenszeit 1 Std nach der Tötung die Prostaglandinmenge einen Mittelwert = 64.078 ng/g aufweist. Danach sinkt die Prostaglandinmenge ab, um in der 6. Std 17.294 ng/g zu erreichen. Dieser Wert wurde noch nach 24 Std. festgestellt.

Im Hautgewebe von Schnittwunden, die 1 Std nach Tötung der Meerschweinchen durch mechanische Asphyxie gesetzt worden waren und bei denen die Entnahme sofort nach der Verletzung erfolgte, fand sich eine Prostaglandinmenge mit dem Mittelwert = 18.027 ng/g. Wie in Tabelle 4 dargestellt ist, sinkt danach die Prostaglandinmenge ab, um nach der 24. Std 9.152 ng/g zu erreichen.

Diskussion

Die kurz nach einer Verletzung festgestellte große Menge (20.032 ng/g) Prostaglandin $F_{2\alpha}$ scheint im Widerspruch zu bisherigen Untersuchungen zu stehen (Piper und Vane 1971; Horton 1969; Änggard et al. 1972), wonach in den Geweben von Säugetieren, einschließlich der Meerschweinchen, keine Depots von Prostaglandinen vorhanden sind. Wir haben zeigen können, daß die Prostaglandine durch die Einwirkung eines konkreten Stimulans entstehen. So ein Stimulans ist durch die Verletzung der Haut, bei der die Zellmembran aller Zellen in der Wundzone geschädigt wurde, gegeben.

Der von uns gefundene Wert des Prostaglandins $F_{2\alpha}$ im Moment der Verletzung eines lebenden Tieres stimmt also nur scheinbar nicht mit den Resultaten der bisherigen Untersuchungen überein. Wie die zitierten Autoren betonen, beginnt die Synthese unter dem Wirksamwerden des konkreten Stimulans sofort. In Abhängigkeit von der Art und Dauer des betreffenden Stimulans steigt die Menge der neugebildeten Prostaglandine schnell an, bis die Synthese aufhört. Das ist auch durch Desintegration des untersuchten Gewebes und durch Auszug der bereits gebildeten Prostaglandine zu erreichen. Bei der von uns angewendeten Methode wird der Auszug schon bei der Homogenisierung vorbereitet und begonnen, durch Einwirkung von Äthylazetat und Isopropanol auf das Homogenat. Bei sorgfältiger Analyse hat sich gezeigt, daß nach Verletzung der Haut des Tieres bis zu dem Moment, wo der Prozeß des Auszugs beginnt, etwa 10 Min. vergehen. In dieser Zeitspanne geht die Prostaglandinsynthese weiter.

Diese Annahme findet ihre Bestätigung in den Resultaten der Experimente mit Hautgewebe, das unmittelbar vor der Tötung verletzt worden war und das bei Zimmertemperatur 30 Min oder 1 Std aufbewahrt wurde. Die Werte des Prostaglandins $F_{2\alpha}$ in den so behandelten Geweben nähern sich den Werten des Prostaglandins aus Wunden, die 30 oder 60 Min überlebt wurden.

Wir sind der Ansicht, daß die unmittelbar nach einer Verletzung gefundenen Prostaglandinmengen als seine Ausgangswerte im Moment der Verletzung der Haut betrachtet werden können.

Wie aus Tabelle 1 zu erkennen ist, kommt es bis zum Ablauf der ersten Stunde zu einem Anstieg der Prostaglandin F_2 alpha-Menge mit einem Bedeutungsniveau in den meisten Fällen von $P < 0.001$. Die Signifikanz der Differenzen zwischen den Mittelwerten wurde durch Berechnung des T -Kriteriums von Student-Fisher bestimmt.

Die von uns gefundenen signifikanten Differenzen der Prostaglandinmenge in zu Lebzeiten zugefügten Verletzungen bis zur 4. Std nach der Verwundung geben uns die Möglichkeit, eine Aussage darüber zu machen, ob es sich um eine vitale Verletzung handelt und welche Zeit seit der Entstehung vergangen ist.

Die von uns gefundene und in den Tabellen 2 und 3 dargestellte Dynamik in den Veränderungen der Prostaglandin F_2 alpha-Mengen in zu Lebzeiten gesetzten Verletzungen, aber in verschiedenen Zeitabständen nach Eintritt des Todes entnommenen Geweben läßt Rückschlüsse zu, ob die Verletzung zu Lebzeiten zugefügt wurde und welche Zeit nach Todeseintritt vergangen ist. Das Absinken der Prostaglandinmenge ist unseres Erachtens durch den eingetretenen Tod bedingt. Ein langsames Absinken der Prostaglandinmenge nach dem Tode findet sich bei Wunden mit längerer Überlebenszeit und stärker ausgeprägten entzündlichen Reaktionen. Unter diesen Bedingungen sinkt auch nach dem Tode wegen einer andauernden Produktion von Prostaglandinen die Menge nur langsam ab.

Wie in Tabelle 4 zu sehen ist, ist in dem Gewebe aus Verletzungen, das zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Abtöten der Tiere gewonnen wurde, ein allmähliches Absinken der Prostaglandin F_2 alpha-Menge festzustellen. In den ersten Stunden nach dem Tode liegen die Werte sehr nahe bei den Prostaglandinmengen, die in zu Lebzeiten zugefügten Wunden gefunden wurden. Diese Tatsache, aber auch die Feststellung von Prostaglandin in nach dem Tode gesetzten Verletzungen, kann mit dem noch immer erhaltenen Mechanismus der Prostaglandinsynthese erklärt werden, der offenbar so lange funktioniert, wie noch erhaltene Zellmembranen mit tauglichen Lipidfraktionen und Enzymen, die in ihrer Gesamtheit auf Stimulantien reagieren und den Anstoß zur Synthese neuer Prostaglandine geben können, vorhanden sind.

Die beschriebenen Resultate aus den Experimenten mit Meerschweinchen fanden ihre Bestätigung in den Ergebnissen aus Untersuchungen von Leichenmaterial.

Aus diesen Untersuchungen ist zu folgern, daß es sich um eine für die gerichtärztliche Praxis brauchbare Untersuchungsmethode handelt. Sie gibt Antwort auf die Fragen, ob eine Wunde zu Lebzeiten entstanden und welche Zeit seit ihrer Entstehung vergangen ist.

Literatur

- Änggard E, Bohman S, Griffin J, Larsson C, Maunsbach A (1972) Subcellular localization of the prostaglandin system in the rabbit renal papilla. *Acta Physiol Scand* 84:231
Berg S (1972) Altersbestimmung von Hautverletzung. *Z Rechtsmed* 70:121-135
Berg S, Ditt J, Friedrich D, Bonte W (1968) Möglichkeiten der biochemischen Wundaltersbestimmung. *Dtsch Z Gesamte Gerichtl Med* 63:183-198

- Berg S, Ditt J, Kunze P (1971) Beziehungen zwischen Histamingehalt und Aktivität der Histidindicarboxylase im Bereich von Hautverletzungen. *Z Rechtsmed* 69:26–40
- Berg S, Garbe G, Luerssen B (1978) Die Bedeutung topischer Differenzen und kadaveröser Veränderungen der Histamin- und Serotonin-Werte für die Wundaltersbestimmung im Tierversuch. *Z Rechtsmed* 82:165–174
- Bergström S, Eliasson R, Euler U, Sjövall J (1959) Some biological effects of two crystalline prostaglandin factors. *Acta Physiol Scand* 45:133
- Bergström S, Carlson L (1965) Lipid mobilization in essential fatty acid deficient rats. A preliminary note. *Acta Physiol Scand* 64:479
- Buris L (1978) Untersuchung über vitale und postmortale Verletzungen und über das Anfangsstadium der Wundheilung. *Kriminal forens Wissensch* 32:55–61
- Caldwell B, Burnstein S, Brock W, Speroff L (1971) Radioimmunoassay of the F prostaglandins. *J Clin Endocrinol* 33:171–175
- Fazekas I, Virágos-Kis E (1965) Der Gehalt der Erhängungsfurche an freiem Histamin als vitale Reaktion. *Dtsch Z Gesamte Gerichtl Med* 56:250–268
- Friebel L, Woohsmann H (1968) Die Altersbestimmung von Kanüleneinstichen mittels enzymhistochemischer Methoden. *Dtsch Z Gesamt Gerichtl Med* 62:252–260
- Horton E (1969) Hypothesis on physiological role of prostaglandins. *Physiol Rev* 49:122
- Johnston M, Hay J, Movat H (1979) The role of prostaglandins in inflammation. In: Movat H (ed) *Inflammatory Reaction*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp 259–289
- Lindner J (1969) Metabolism of granulation tissue and other connective tissues. *Scand J Clin Lab Invest* 108:12–13
- Piper P, Vane J (1969) Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by anti-inflammatory drugs. *Nature (London)* 223:29–35
- Piper P, Vane J (1971) The release of prostaglandins from lung and other tissues. *Ann NY Acad Sci* 180:363–385
- Prokop O, Göhler W (1975) *Forensische Medizin. Volk und Gesundheit*, Berlin, S 73–84
- Raekallio J (1961) Histochemical studies on vital and postmortem skin wounds. University of Helsinki, Helsinki, pp 7–11
- Raekallio J (1964) Histochemical distinction between antemortem and postmortem skin wounds. *J Forensic Sci* 9:107–118
- Raekallio J (1965) Die Altersbestimmung mechanisch bedingter Hautwunden mit enzymhistochemischen Methoden. *Max Schmidt-Römhild, Lübeck*, S 11–16
- Raekallio J (1966) Enzyme histochemistry of vital and postmortem skin wounds. *J Forensic Med* 13:85–91
- Sedlarik K (1984) Diagnostik der Wundheilung. In: Sedlarik (Hrsg) *Wundheilung*. G Fischer, Jena, S 137–139
- Vane J (1976) Prostaglandins as mediators of inflammation. *Adv Prost Thrombox Res* 2:791–801
- Ward P (1979) Mediators of the inflammatory reactions. In: *Mechanisms of Immunopathology*. John Wiley and Sons, New York, pp 9–10

Eingegangen am 2. Oktober 1986