

Freisetzung von Proteinase-Inhibitoren als vitale Reaktion im frühen posttraumatischen Intervall

M. Oehmichen¹ und V. Schmidt² unter technischer Assistenz von K. Stuka¹

¹Institut für Rechtsmedizin der Universität zu Köln, Melatengürtel 60–62, D-5000 Köln 30, Bundesrepublik Deutschland

²Institut für gerichtliche Medizin der Universität Tübingen, Nägelestrasse 5, D-7400 Tübingen, Bundesrepublik Deutschland

Release of proteinase inhibitors as an indication of vitality during the early post-traumatic interval

Summary. In a pilot study paraffin-embedded sections of open skin wounds (stab and slash wounds, lacerations) were investigated to determine the presence of a vital reaction. Granulocytes were detected by naphthol AS-D chloroacetate esterase, the enzyme "lysozyme", and eight proteinase inhibitors by the indirect immunoperoxidase method. The tissue specimens were taken from consecutive autopsy material. The survival time could be determined in 14 cases (10–165 min) and was unknown in 12 other cases of sudden death due to injury of the major vessels or heart. The controls were cases with injuries inflicted after and cases of sudden death due to massive blunt trauma served death. In vital injuries, accumulations of proteinase inhibitors, particularly alpha-2-macroglobulin and alpha-1-antichymotrypsin, were demonstrable in the corium parallel to the wound surface. In comparison, the reaction of proteinase inhibitors that neutralize only enzymes participating in blood coagulation or complement activation (C1-esterase inhibitor and protein C) was absent or weak. Protein accumulation was observed only sporadically in cases of sudden death and never in cases with wounds inflicted after death. No relationship could be established between semiquantitatively estimated staining and survival time. Granulocytes and lysozyme were first observed in the corium after a survival time of more than 60 min.

Key words: Vitality, proteinase inhibitor – Proteinase inhibitor

Zusammenfassung. Offene Hautdurchtrennungen (Stich-, Schnitt- und Platzwunden) wurden nach Paraffineinbettung zu der Frage untersucht, ob eine vitale Reaktion besteht. Dargestellt wurden Granulozyten mittels Naphthol-AS-D-Chlorazetat Esterase, das Enzym „Lysozym“ sowie insge-

samt 8 Proteinasehemmer mit der indirekten Immunperoxidase-Methode. Die untersuchten Gewebeproben wurden dem laufenden Sektionsmaterial entnommen, wobei in 14 Fällen die Lebenszeit eingegrenzt werden konnte (10–165 Min), während in 12 weiteren Fällen der Tod – ohne bekannte Überlebenszeit – akut infolge einer Verletzung großer Gefäße bzw. des Herzens eintrat. Zum Vergleich wurden postmortal gesetzte Verletzungen ebenso hinzugezogen wie Fälle, die durch massive stumpfe Gewalteinwirkung praktisch sofort zu Tode gekommen waren. Es wurde im Rahmen dieser Pilotstudie festgestellt, daß bei vitalen Verletzungen Proteinasehemmer saumartig parallel zur Wundoberfläche angereichert im Corium nachweisbar werden – besonders alpha-2-Makroglobulin und alpha-1-Antichymotrypsin. Proteinasehemmer, die praktisch nur Enzyme der Blutgerinnung bzw. Complementaktivierung neutralisieren (C1-Esterase-Inhibitor und Protein C) zeigten demgegenüber keine oder nur eine geringe Reaktion. In den Vergleichsfällen konnte nur vereinzelt eine Protein-Anreicherung beobachtet werden, jedoch in postmortal gesetzten Wunden in keinem Fall. Eine Abhängigkeit des semiquantitativ erfaßten Farbniederschlages von der Überlebenszeit konnte nicht festgestellt werden. Granulozyten und Lysozym waren nach Überlebenszeiten von mehr als 60 Minuten erstmals im Corium zu beobachten.

Schlüsselwörter: Vitale Reaktion, Proteinasehemmer – Proteinasehemmer

Einleitung

Proteinasehemmer haben die Aufgabe der Modellierung und Regulierung der Proteinase (Murano 1986). Da Proteinase-ähnliche Enzyme im Sinne von Cathepsin A, B und D bereits in 10–20 Min nach Trauma am Wundrand in hoher Aktivität biochemisch nachweisbar sind (Hernandez-Cueto et al. 1987), wäre eine Anreicherung auch von Proteinasehemmern zu diesem Zeitpunkt bereits theoretisch möglich. Hierfür könnte u. a. auch die Beobachtung einer Freisetzung der Proteinasehemmer in der Zellkultur innerhalb von 30 Min sprechen (Valle und Bauer 1979; Nagase et al. 1983).

Mit Hilfe der von Sternberger (1979) entwickelten Methode der indirekten Immunhistochemie mittels PAP-Komplex lassen sich die auch am Paraffinschnitt erhaltenen Antigene z. T. morphologisch darstellen. Handelsübliche polyclonale Antikörper existieren u. a. gegen ein lysosomales Enzym (Muramidase bzw. Lysozym) sowie gegen 8 Proteinasehemmer. Im folgenden soll über erste Ergebnisse bei Darstellung des Enzyms „Lysozym“ und von 8 Proteinasehemmern am Paraffinschnitt von offenen Hautwunden berichtet werden, die unterschiedlich lange überlebt wurden.

Material und Methoden

Aus dem unausgewählten Sektionsmaterial wurden offene Hautwunden (Schnitt- und Stichverletzungen, Platz- und Quetschwunden) für die Untersuchung herangezogen. In 14 Fällen

Tabelle 1. Untersuchte Proteinasehemmer einschließlich der im Text verwendeten Abkürzungen, Molekulargewicht und Plasmakonzentrationen unter gleichzeitiger Angabe des Codes und der Verdünnung der verwendeten Antikörper (Firma Dakopatts, D-2000 Hamburg). Das Molekulargewicht und die Plasmakonzentrationen wurden den Angaben von Murano (1986) und Gebhard und Hochstrasser (1986) entnommen

Proteinasehemmer	Abkürzung	Molekulargewicht	Plasmakonzentration (mg/dl)	Verwendete Antikörper	
				Code	Verdünnung
alpha-1-Antitrypsin	a-1-AT	54000	290	A 012	1:1000
Inter-alpha-Trypsin-Inhibitor	ITI	180000	500	A 301	1: 500
alpha-1-Antichymotrypsin	a-1-ACT	59000	49	A 022	1:1000
Antithrombin III	ATH III	65000	15	A 296	1: 500
C1-Esterase-Inhibitor	C1-INH	104000	24	A 253	1: 500
alpha-1-Antiplasmin	a-2-APL	70000	7	A 303	1: 500
alpha-2-Makroglobulin	a-2-M	725000	268	A 033	1: 500
Protein C	Protein C	62000	8	A 370	1: 500

einer tödlichen Stich-/Schnittverletzung konnten die Überlebenszeiten eingegrenzt werden, die zwischen 10 und 165 Min lagen. In 12 weiteren Fällen blieb die Überlebenszeit unbekannt; aufgrund der Lokalisation der Verletzungen (Eröffnung großer Arterien bzw. des Herzens) sowie der Todesursache („Verbluten“) konnte in diesen Fällen von Überlebenszeiten ausgegangen werden, die wahrscheinlich z. T. kürzer als 10 Min einzuschätzen waren. Zum Vergleich wurden 11 Fälle herangezogen, die durch Sprung aus großer Höhe bzw. durch Zug- oder Autoüberrollen praktisch sofort nach der Gewalteinwirkung gestorben waren. Als Kontrolle galten zahlreiche Fälle mit postmortal gesetzten Verletzungen, die z. T. durch den Notarzt (Injektionsmarke) gesetzt worden waren, d. h. innerhalb eines postmortalen Intervalles von weniger als 1 Std.

Asserviert wurden jeweils Stich- und Schnittlücken, die unterschiedlich lokalisiert waren. Das postmortale Intervall zum Zeitpunkt der Entnahme betrug 12–96 Std. Das Gewebe wurde entsprechend Routinemethoden in 4%igem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. 5 µm-dünne Schnitte wurden hergestellt.

Dargestellt wurden neutrophile Granulozyten sowie Mastzellen mit Hilfe des Nachweises von Naphthol-AS-D-Chlorazetat-Esterase (Leder 1964).

Mit Hilfe der indirekten Immunhistochemie (Sternberger, 1979) wurden folgende Antigene dargestellt:

- Lysozym, ein Enzym, das überwiegend im Rahmen der bakteriellen Auflösung Funktionen übernimmt, jedoch auch bei Auflösung körpereigener Proteine eine gewisse Funktion übernimmt (Antikörper der Fa. Dako, D-2000 Hamburg; Code A 099; Verdünnung 1:2000).
- Proteinasehemmer, die tabellarisch zusammengestellt wurden (Tabelle 1) unter gleichzeitiger Angabe der verwendeten Konzentrationen der Primär-Antikörper, die bei der histochemischen Darstellung der Antigene Anwendung fanden.
- Sekundär-Antikörper (polyklonaler Antikörper „anti rabbit Ig“ – Fa. Dako, D-2000 Hamburg/FRG; Code A 022) 1:100 verdünnt.
- PAP-Komplex (Fa. Dako; Code: Z 112) 1:100 verdünnt.

Im Sinne einer inneren (positiven) Kontrolle galt der Nachweis der Proteinase-Inhibitoren sowie des Lysozyms in den Hautmastzellen, die mit allen verwendeten Antikörpern ebenso wie einzelne andere hämatogene Zellelemente (vgl. Tabelle 2) markiert werden konnten. Als innere negative Kontrolle wurde die postmortal gesetzte Schnittebene gewertet, die sich bei Heraustrennen des intravital verletzten Hautareals ergab. Zusätzliche Kontrolluntersuchungen erfolgten unter Durchführung aller Einzelschritte der PAP-Immunhistochemie zur Dar-

Tabelle 2. Nachweis von Proteinasehemmern und Lysozym in unterschiedlichen Zelltypen (Literaturnachweis: 1 = Berninger 1986a; 2 = Berninger 1986b; 3 = Daniels 1974; 4 = Gebhard und Hochstrasser 1986; 5 = Motoi et al. 1980; 6 = Roberts 1986; 7 = eigene Beobachtungen)

Zelltypen	Proteinasehemmer										Lysozym
	a-1-AT	ITI	a-1-ACT	ATH III	CI-INH	a-2-APL	a-2-M	Protein C			
Neutrophile Granulozyten	+ ^{1,5}	+ ⁴	+ ^{2,3,5}								+ ⁵
Monozyten	+ ¹		+ ^{2,3}				+ ⁶				+ ⁵
Makrophagen	+ ¹	+ ⁴	+ ^{2,3}				+ ⁶				+ ⁵
Lymphozyten	+ ¹						+ ⁶				
Thrombozyten	+ ¹										
Erythrozyten	+ ¹										
Fibroblasten							+ ⁶				
Mastzellen	+ ¹	+ ⁷	+ ^{2,3}	+ ⁷	+ ⁷	+ ⁷	+ ⁶	+ ⁷	+ ⁷	+ ⁷	+ ⁵

stellung von antigenen Strukturen unter Verzicht des primären Antikörpers. Zum Nachweis der Reproduzierbarkeit des Farbniederschlags erfolgte die Darstellung von Proteinasehemmern an mehreren Stufenschnitten.

Die Auswertung erfolgte semiquantitativ, wobei folgende Differenzen erfaßt wurden: (–) keine sichtbare Reaktion; (+) mäßiggradige Reaktion; (++) deutliche Reaktion:

Zur Erfassung der Spezifität des Reaktionsausfalles wurden zusätzliche Hemmversuche durch Zugabe von gereinigten Proteinase-Inhibitoren durchgeführt. Zu drei Inhibitoren wurden uns freundlicherweise Reinsubstanzen von Prof. Dr. N. Heimbürger (Behring-Werke, D-3550 Marburg) zur Verfügung gestellt: a-2-M: K-Nr. 730 604; a-1-ACT: K-Nr. 041 181/220 382; a-1-AT: K-Nr. 250 386/1 A III.

Ergebnisse

Fälle mit eingrenzbarer Überlebenszeit (Tabelle 3):

In Form eines goldbraunen Farbniederschlags konnte parallel zur Schnittoberfläche nahezu regelmäßig eine Anreicherung der Proteinasehemmer am Rande der durchtrennten Kollagenfasern saumartig nachgewiesen werden (Abb. 1). Die Anreicherung war von Fall zu Fall unterschiedlich ausgedehnt, offenbar in Abhängigkeit von dem Ausmaß der Läsion von Kollagenfasern. Die Anreicherung war ferner ausschließlich an Kollagenfasern des Coriums nachweisbar, nicht in der Epidermis bzw. im Fettgewebe oder Muskulatur.

Insgesamt 6 der untersuchten 8 Proteinasehemmer waren praktisch in jedem Fall am Wundrand angereichert. Ausschließlich die Proteinasehemmer C1-INH sowie Protein C konnten nur unregelmäßig und jeweils – wenn überhaupt – vergleichsweise diskret nachgewiesen werden. Regelmäßig und jeweils am deutlichsten abgrenzbar war der Farbstoffniederschlag bei Verwendung der Antikörper gegen a-2-M und a-1-ACT. Eine Abhängigkeit der Intensität des Farbstoffniederschlags bzw. der Breite des Reaktionssaumes von der Überlebenszeit konnte im Rahmen der semiquantitativen Analyse nicht verifiziert werden.

Lysozym wurde zum gleichen Zeitpunkt nachweisbar wie Granulozyten – in den untersuchten Fällen bei einer Überlebenszeit von mehr als 60 Min.

Fälle mit unbekannter Überlebenszeit (Tabelle 4):

Regelmäßig war in allen aufgeführten Fällen einer vitalen Schnitt- bzw. Stichverletzung a-2-M und a-1-ACT angereichert, während besonders C1-INH und Protein C in den meisten Fällen gar nicht oder nur diskret nachweisbar wurden. Lysozym ebenso wie Granulozyten waren nur in insgesamt 1 bzw. 2 der untersuchten Fälle nachweisbar. Die übrigen Proteinasehemmer waren nahezu durchgehend, offenbar jedoch in einer etwas geringeren Quantität als a-2-M und a-1-ACT, nachweisbar.

Fälle extrem kurzer Überlebenszeiten (Tabelle 5):

Sowohl in zwei Fällen eines Sprunges aus großer Höhe als auch in 4 Fällen eines Zug- bzw. Autoüberrollens konnte von insgesamt 11 Fällen eine diskrete An-

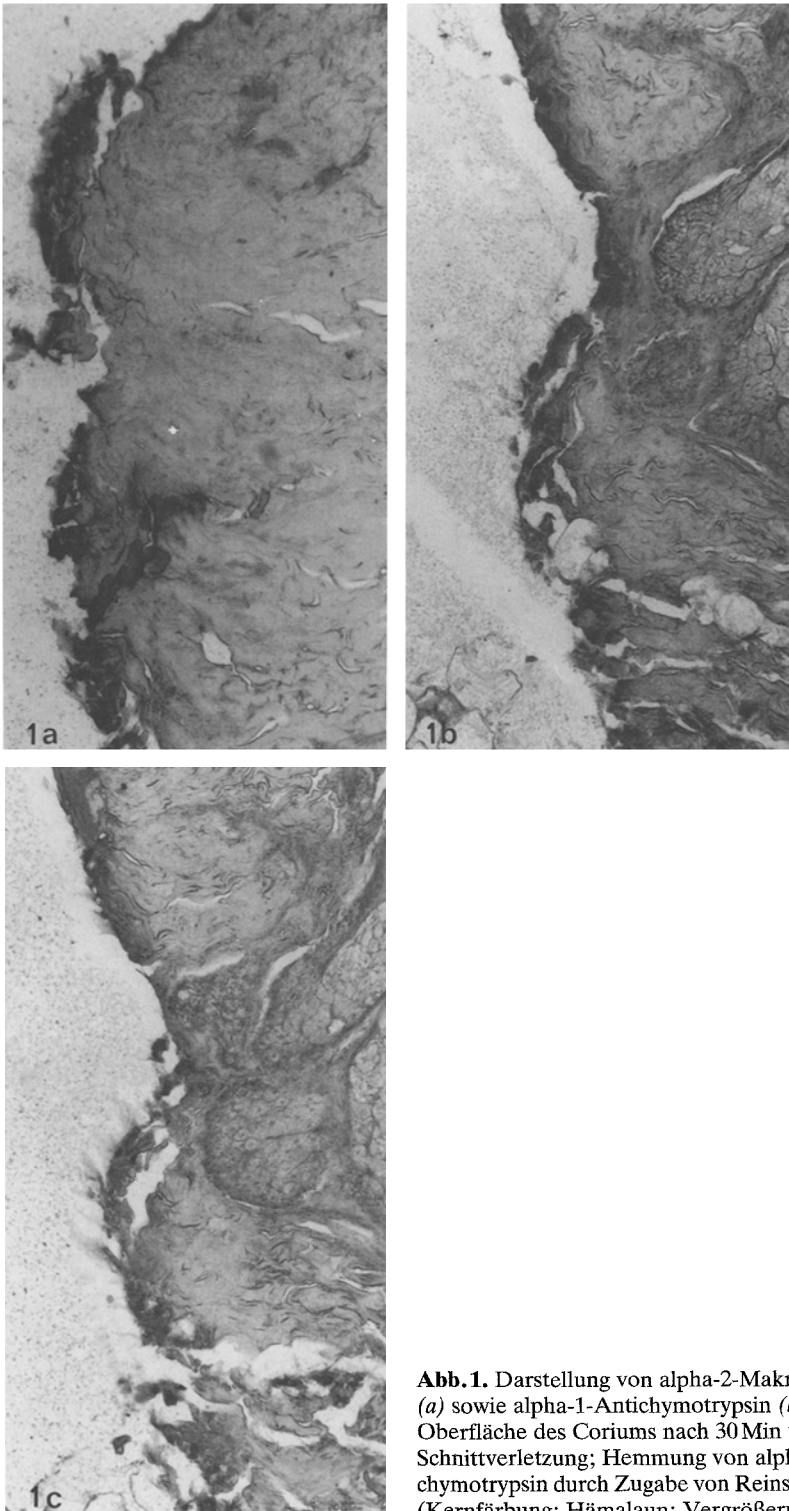


Abb. 1. Darstellung von alpha-2-Makroglobulin (a) sowie alpha-1-Antichymotrypsin (b) an der Oberfläche des Coriums nach 30 Min überlebter Schnittverletzung; Hemmung von alpha-1-Antichymotrypsin durch Zugabe von Reinsubstanz (c). (Kernfärbung: Hämalan; Vergrößerung: $\times 75$)

Tabelle 3. Reaktionsausfall bei Darstellung unterschiedlicher Proteinase-Inhibitoren einschließlich Lysozym und neutrophiler Granulozyten in Fällen mit eingrenzbarer Überlebenszeit (= ÜZ; Angaben in Minuten = min); semiquantitative Analyse (vgl. Text)

ÜZ (min)	Fall-Nr.													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
a-1-AT	-	++	++	+	+	++	++	++	+	+	++	+	++	+
ITI	+	++	++	+	+	++	++	++	+	+	+	+	++	++
a-1-ACT	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++
ATH III	++	++	++	+	+	+	++	+	+	++	++	++	++	++
C-1-INH	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
a-2-APL	+	+	-	+	+	+	++	++	+	-	++	+	+	+
a-2-M	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Protein C	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
Lysozym	-	-	-	-	-	-	++	++	-	-	+	+	+	+
Granulozyten	-	-	-	-	-	-	++	+	+	+	+	-	+	+

Tabelle 4. Reaktionsausfall bei Darstellung unterschiedlicher Proteinase-Inhibitoren einschließlich Lysozym und neutrophiler Granulozyten in Fällen mit unbekannter Überlebenszeit, die jedoch alle am Verblutungstod nach Eröffnung größerer Gefäße oder des Herzens starben; semiquantitative Analyse (vgl. Text)

	Fall-Nr.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a-1-AT	-	-	-	++	-	++	+	+	++	+	++	++
ITI	-	+	+	-	-	+	++	++	++	++	++	++
a-1-ACT	-	-	+	++	+	++	++	++	++	++	++	++
ATH III	-	-	+	-	+	+	++	++	++	++	+	+
C-1-INH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
a-2-APL	-	-	-	-	+	-	-	-	+	++	-	+
a-2-M	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++
Protein C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Lysozym	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Granulozyten	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

Tabelle 5. Reaktionsausfall bei Darstellung unterschiedlicher Proteinase-Inhibitoren einschließlich Lysozym und neutrophiler Granulozyten in Fällen, die vital Verletzungen erlitten, an denen sie praktisch sofort starben (extrem kurze Überlebenszeiten); semiquantitative Analyse (vgl. Text)

	Sprung aus großer Höhe					Zug-/Auto-Überrollen						
	Fall-Nr.					Fall-Nr.						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
a-1-AT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ITI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
a-1-ACT	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
ATH III	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
C-1-INH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a-2-APL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a-2-M	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
Protein C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lysozym	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Granulozytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

reicherung von wenigen Proteinasehemmern (ITI, a-1-ACT, ATH III und a-2-M) beobachtet werden.

Kontrolluntersuchungen zur Frage der Vitalität und Spezifität:

In keinem Fall einer postmortalen Verletzung konnte eine Anreicherung der Proteinase-Inhibitoren oder des Enzyms bzw. der Granulozyten am Wundrand beobachtet werden.

Im Rahmen der Spezifitätskontrolle wurde eine 0,1%ige, 0,01%ige und 0,001%ige Lösung der drei zur Verfügung stehenden gereinigten Proteinase-Inhibitoren hergestellt und die Hemmwirkung auf den Ablauf der Antigen-Antikörper-Reaktion beobachtet. Mit der 0,1%igen Lösung konnte der saumartige Farbniederschlag am Wundrand vollständig verhindert werden (vergl. Abb. 1c), während die übrigen Konzentrationen allenfalls zu einer Verminderung des Farbniederschlages, jedoch nicht zu einer Löschung führte. Der Farbniederschlag in den Granula der Mastzellen wurde jedoch ausschließlich vermindert, in keinem Fall gelöscht.

Diskussion

Wie dargestellt, konnten Proteinasehemmer, insbesondere a-2-M und a-1-ACT, in praktisch allen vitalen Verletzungen saumartig parallel zur Schnittoberfläche im Corium angereichert nachgewiesen werden, während – umgekehrt – ein Nachweis in sicher postmortalen Verletzungen nicht gelang. Eine positive Reaktion gelang bereits im sehr frühen posttraumatischen Intervall und war nur in einzelnen Fällen extrem kurzer Überlebenszeiten gering bzw. gar nicht möglich. Aufgrund dieses Erscheinungsbildes ist zunächst davon auszugehen, daß der Nachweis von Proteinasehemmern als Phänomen der Vitalität anzusehen ist.

Bekannt ist, daß bei immunhistochemischen Darstellungen sich besonders am Rand des Paraffinschnittes häufig ein unspezifischer Farbniederschlag etabliert. Im vorliegenden Untersuchungsmaterial konnte der Rand des postmortal durchgeführten Schnittes durch das kollagene Bindegewebe als innere „Negativkontrolle“ gelten: beim Herausschneiden der Stich-/Schnittlücke bzw. der Platzwunde wurde postmortal eine Schnittfläche im Corium gesetzt, die in den vorliegenden Fällen nach der Immunreaktion jeweils ohne Farbniederschlag blieb. Ein Artefakt ist somit auszuschließen.

Durchgehend auffällig war das bei Verwendung von Antikörpern gegen unterschiedliche Proteinasehemmer quantitativ unterschiedliche Ausmaß des Farbniederschlages am Wundrand. Da bekanntermaßen C1-INH sowie Protein C praktisch nur Faktoren der Blutgerinnung und des Complementsystems hemmen (vgl. auch Tabelle 6) – ohne wesentliche Einwirkung auf Kollagen-abbauende Enzyme (Murano 1986) – ist verständlich, daß speziell diese Inhibitoren kaum oder nur in äußerst geringem Ausmaß am Wundrand angereichert nachgewiesen werden können.

Das unterschiedliche Ausmaß des Farbniederschlages der übrigen Proteinasehemmer korrespondiert – innerhalb der Grenzen ihrer Spezifität – mit der Aktivität der einzelnen Enzyme, die durch die Inhibitoren gehemmt werden und deren Aktivitätsunterschiede in ihrer Abhängigkeit von der Überlebenszeit im Wundgebiet bisher nicht bekannt sind. Legt man die eigenen Ergebnisse zugrunde, so wird aufgrund der jeweils deutlichen Reaktion von a-2-M und a-1-ACT-Antiseren vor allem das Enzym Chymotrypsin (insbesondere auch die von Mastzellen freigesetzte Chymase) frühzeitig am Wundrand freigesetzt und durch die Inhibitoren neutralisiert.

Die lokale Anreicherung von Inhibitoren (und offenbar auch Enzymen) kurzfristig nach der Wundsetzung läßt sich praktisch nur durch eine Freisetzung

aus lokalen Zellen erklären, d. h. aus Mastzellen der Haut. Diese enthalten Enzyme, insbesondere das Chymotrypsin im Sinne von Chymase sowie praktisch alle Inhibitoren (vgl. Tabelle 2). Die Enzyme werden bekanntermaßen zusammen mit Heparin im Rahmen der Degranulation von Mastzellen freigesetzt (Fräki et al. 1983). Die Granula enthalten jedoch auch Inhibitoren, so daß aus morphologischer Sicht mit der Degranulation eine Freisetzung auch von Inhibitoren verbunden ist.

Diese Überlegungen lassen sich unschwer in bereits vorliegende Erfahrungen einordnen, wonach freies Histamin aus Mastzellen bereits wenige Minuten nach Wundsetzung in hoher Konzentration am Wundrand nachweisbar wird (Fazekas und Viragos-Kis 1965, 1967, 1971; Berg et al. 1968; Merli et al. 1969; Raekallio und Mäkinen 1966, 1970, Berg und Bonte 1971). Der Nachweis des freien Histamins durch die aufgeführten Autoren erfolgte jedoch mittels relativ aufwendigen biochemischen Methoden am nativen Material.

Eine Anreicherung des aus Mastzellen freigesetzten Histamins ist zweifelsfrei ebenso wie eine Anreicherung der Proteinasehemmer von einer – mindestens kurzfristig – noch vorhandenen Kreislaufaktion abhängig. Erstaunlich ist dabei der Nachweis von Inhibitoren am Wundrand auch in einzelnen der Fälle, die praktisch direkt durch die Gewalteinwirkung selbst zu Tode gekommen sein mußten. Offenbar bestand in diesen Fällen noch eine kurze Kreislaufaktion, die ausreichte, eine sichtbare Anreicherung der Inhibitoren zu induzieren.

Weder für die Intensität noch für die Saumbreite des Farbniederschlages konnte eine Abhängigkeit von der Überlebenszeit nachgewiesen werden. Eher schienen die erfaßten quantitativen Unterschiede einerseits durch die individuell unterschiedliche Konzentration der verschiedenen Inhibitoren in den Mastzellen bedingt zu sein; andererseits dürfte unter anderem das Ausmaß der mechanischen Läsion der Kollagenfasern sowohl die Intensität als auch die Saumbreite des Farbniederschlages bestimmen.

Bei Untersuchung einer Vielzahl von Fällen muß daran gedacht werden, daß es einen genetisch determinierten Mangel an α -1-AT (Berninger 1986a), ATH III (Kidd und Woo 1986) und C1-INH (Daniels 1974) gibt. Dieser Mangel ist einerseits durch jeweils bestimmte Krankheitsbilder gekennzeichnet und dürfte sich andererseits u. a. auch darin äußern, daß die Mastzellen des Coriums das Antigen nicht exprimieren.

Am Ende sei nochmals darauf hingewiesen, daß die vorgelegten Befunde im Sinne einer Pilotstudie zu interpretieren sind; die aktuelle Bedeutung für die Forensische Pathologie ließ eine derzeitige Veröffentlichung sinnvoll erscheinen.

Literatur

- Berg S, Bonte W (1971) Praktische Erfahrungen mit der biochemischen Wundaltersbestimmung. *Beitr Gerichtl Med* 28: 108–114
- Berg S, Ditt J, Friedrich D, Bonte W (1968) Möglichkeiten der biochemischen Wundaltersbestimmung. *Dtsch Z Gericht Med* 63: 183–198
- Berninger RW (1986a) α ₁-antichymotrypsin. *J Med Exptl Clin* 16: 23–99
- Berninger RW (1986b) α ₁-antichymotrypsin. *J Med Exptl Clin* 16: 101–128

- Björk I, Danielsson A (1986) Antithrombin and related inhibitors of coagulation proteinases. In: Proteinase inhibitors (A. J. Barrett, G. Selvesen, eds.), pp 489–513, Amsterdam New York Oxford: Elsevier
- Daniels JC (1974) Abnormalities of protease inhibitors. In: Serum protein abnormalities. Diagnostic and clinical aspects. (S. E. Ritzmann, J. C. Daniels, eds.), pp 243–263. Little: Brown and Co.
- Fazekas IG, Viragos-Kis E (1965) Der Gehalt des Erhängungsfurche an freiem Histamin als vitale Reaktion. Dtsch Z Gerichtl Med 56:250–268
- Fazekas IG, Viragos-Kis E (1967) Über den Gehalt der menschlichen Haut verschiedener Körperregionen an freiem und Gesamt-Histamin. Dtsch Z Gerichtl Med 61:107–116
- Fazekas IG, Viragos-Kis E (1971) Der Gehalt verschiedener Verletzungen an freiem Histamin als Vitalreaktion. Z Rechtsmed 68:86–94
- Fräki JE, Lazarus GS, Hopsu-Havu VK (1983) Protein catabolism in the skin. In: Biochemistry and physiology of the skin (L. A. Goldsmith, ed.), pp 338–362, New York, Oxford Press
- Gebhard W, Hochstrasser K (1986) Inter-a-trypsin inhibitor and its close relatives. In: Proteinase inhibitors (A. J. Barrett, G. Salvesen, eds.), pp 189–401, Amsterdam New York Oxford: Elsevier
- Hernandez-Cuteto C, Luna A, Lorenta JA, Villanueva E (1987) Study of cathepsin A, B and D activities in the skin wound edges. Its application to the differential diagnosis between vital and postmortem wounds. Forensic Sci Int 35:51–60
- Kidd VJ, Woo SLC (1986) Molecular analysis of the serine proteinase inhibitor gene family. In: Proteinase inhibitors (A. J. Barrett, G. Salvesen, eds.), pp 421–440, Amsterdam New York Oxford, Elsevier
- Leder LD (1964) Über die selektive fermentcytochemische Darstellung von neutrophilen myeloischen Zellen und Gewebsmastzellen im Paraffinschnitt. Klin Wschr 42:553
- Lijnen HR, Collen D (1986) Alpha-2-Antiplasmin. J Med Clin Exp Theor 16:225–283
- Merli S, Gualdi G, Ronchi GU (1969) La diagnosi cronologica delle ferite cutanee. Zaccchia 44:380–391
- Motoi M, Stein H, Lennert K (1980) Demonstration of lysozyme, alpha₁-antichymotrypsin, alpha₁-antitrypsin, albumin, and transferrin with immunoperoxidase method in lymph node cells. Virchows Arch [B] 35:73–82
- Murano G (1986) Introduction. J Med Exptl Clin 16:17–21
- Nagase H, Brinckerhoff CE, Vater CA, Harris ED (1983) Biosynthesis and secretion of procollagenase by rabbit synovial fibroblasts. Biochem J 214:281–288
- Raekallio J, Mäkinen PL (1966) Histamine content as vital reaction. I. Experimental investigation. Zaccchia 41:273–284
- Raekallio J, Mäkinen PL (1970) Serotonin and histamine contents as vital reactions. II. Autopsy studies. Zaccchia 45:403–414
- Roberts RC (1986) Alpha-2-Makroglobulin. J Med Exptl Clin 16:129–219
- Starkey Ph M, Barrett AJ (1977) α₂-Macroglobulin, a physiological regulator of proteinase activity. In: Proteinases in mammalian cells and tissues. (A. J. Barrett, ed.), pp 663–696, Amsterdam New York, Oxford: North-Holland Publishing Company
- Sternberger LA (1979) Immunocytochemistry. New York Chichester Brisbane Toronto: John Wiley & Sons
- Valle KJ, Bauer EA (1979) Biosynthesis of collagenase by human skin fibroblasts in monolayer cultures. J Biol Chem 254:10115–10122
- Woolley DE (1984) Mammalian collagenases. In: Extracellular matrix biochemistry (K. A. Piez, A. H. Reddi, eds.), pp. 119–157, Amsterdam, Elsevier

Eingegangen am 20. Januar 1989