

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

## Untersuchungen zum Verhalten der Eiweißkörper aus Leichenserien „in der Norm“ und bei Fällen mit akuter Entzündung und Nekrose\*

Von

F. MARTINEZ-TELLO, D. BRAUN, H. SAWADE und O. HAFERKAMP

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. März 1965)

Wenn auch die Untersuchungsergebnisse von ROBINSON und KELLENBERGER sowie auch Befunde von HAFERKAMP (2, 3) eine postmortale Serumeiweißanalyse und ihre Verwertbarkeit bei der Obduktionsdiagnostik möglich erscheinen lassen, so könnten doch Bedenken etwa im Hinblick auf eine in der Papierelektrophorese nicht faßbare Veränderung von Serumeiweißkörpern gleich nach dem Tode geäußert werden. Diese Vermutung wird schon allein durch unterschiedliche Hämolysgrade der einzelnen Leichenserien bestärkt.

Wir haben deshalb das Verhalten der Serumeiweiße unserer Obduktionsfälle „in der Norm“ untersucht. Unter Leichenserien „in der Norm“ verstehen wir solche, die von Obduktionen stammen, bei denen nach WUHRMANN und MÄRKI sowie RIVA keine Verschiebungen der Serumeiweißwerte und keine Veränderungen dieser Eiweißkörper vorliegen dürften. Das Ergebnis dieser Untersuchungen haben wir dann mit den entsprechenden Serumeiweißwerten verglichen, die nach der Zusammenstellung von WUHRMANN und MÄRKI sowie RIVA als „Normalwerte“ bei Patienten zu gelten haben. Da aus verständlichen Gründen in unserem Obduktionsgut nur wenige dieser Fälle zur Verfügung standen, haben wir den Reaktions-Konstellationstypus 1 (akut-entzündliche und nekrotisch-einschmelzende Krankheitsprozesse nach WUHRMANN und MÄRKI) an Leichenserien mit-einbezogen. Dies erschien uns aus zwei Gründen berechtigt: Einmal ist dieser Reaktions-Konstellationstyp papierelektrophoretisch wohl definiert — „deutliche Vermehrung der  $\alpha_2$ -Fraktion, im Maximum bis 22—25%, begleitet von einer meist nur kurz vorausgehenden  $\alpha_1$ - und etwas nachhinkenden  $\beta$ -Globulinvermehrung; die Albuminverminderung entspricht der Vermehrung der Globuline, so daß ein Gesamtproteinpiegel im Bereich der Norm resultiert oder sie ist überschließend, so daß die Gesamtproteinwerte bis gegen 5 g-% absinken können“ (WUHRMANN und MÄRKI). — Zum andern kann durch die Obduktion eine akute Entzündung und eine Nekrose (Pneumonie, Cystitis, Herzinfarkt, Lungeninfarkt, Niereninfarkt) sicher nachgewiesen werden. Dabei wurde bei der Auswahl der Fälle des Reaktions-Konstellationstyps 1 betont darauf geachtet, daß keine anderen Erkrankungen vorlagen, die ihrerseits das Serumeiweißbild beeinflussen konnten.

### Material und Methodik

**Material.** Gewinnung: Fast stets konnten 10—20 ml Blut durch Punktions aus dem rechten Herzen gewonnen werden (Methode von SCHOTTMÜLLER). Bei vorsichtigem Hantieren ist eine bakterielle Verunreinigung zu vermeiden. Einer Gewinnung größerer Blutmengen

\* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

(bis 150 ml) aus der Vena femoralis steht die dabei nicht zu gewährleistende Sterilität entgegen. Nach entsprechender Lagerung einer Leiche auf einem Operationstisch — tiefliegender Kopf und hochliegende Füße — konnten wir vor der Obduktion aus einer eröffneten Vena jugularis maximal bis 1000 ml Blut bzw. 400—500 ml Serum gewinnen. Letzteres bewahrten wir in der Tiefkühltruhe bei —30° C bis zur Verwendung auf.

*Vorbemerkungen zur makroskopischen Begutachtung der gewonnenen Leichenserien.* Wenn man das Ergebnis der Eiweißanalyse von Leichenserien mit dem von Patientenserien vergleichen will, muß man wie bei der histologischen Untersuchung sowohl die Zeitdauer bis zur postmortalen Blutentnahme als auch den durch Autolyse und Fäulnis beeinflußten Erhaltungszustand berücksichtigen. Dieser hängt nicht nur von der Todeszeit, sondern von mannigfachen Umständen ab, etwa von der Lagerung der Leiche nach dem Tode, der eigentlichen Todeskrankheit (z.B. Urämie oder akute gelbe Leberatrophie mit bekannt schneller Autolyse und Fäulnis des Gewebes) oder sogar einer bakteriellen Besiedlung des Blutes.

Nun fällt ein solcher Unterschied im Erhaltungszustand schon bei der makroskopischen Beurteilung der Leichenserien auf (s. ORTH). Im einzelnen konnten wir dann an den inzwischen am Bonner Pathologischen Institut gesammelten über 1000 Leichenserien (s.a. HAVERKAMP) bei der makroskopischen Betrachtung folgende Befunde erheben: Eine häufige Veränderung der Leichenserien ist ihre Rotfärbung infolge postmortaler Auflösung von Erythrocyten (Hämolyse). Hinzu tritt dann bei verstärkter Rotfärbung nicht selten eine Trübung des Serums. Stark dunkelblaurotes, eingedicktes Blut stellt den stärksten Grad postmortaler Veränderung dar; in solch einem Fall ist kein Serum mehr zu gewinnen. Über diese Befunde hinaus fielen uns Veränderungen des Geruches an den trüben Seren auf, die hin und wieder sogleich — und nicht erst nach Stunden — bei der Entnahme faulig rochen. Diese zeigten dann bei der bakteriologischen Untersuchung eine Besiedlung mit Fäulnisserregern (Coli, Proteus vulgaris). Daneben sind aber unter unseren Leichenserien zahlreiche vorhanden, die sich in ihrer makroskopischen Beschaffenheit nicht von einem zu Lebzeiten gewonnenen Patientenserum unterscheiden.

Folgt man nun in etwa einem Vorschlag von ROBINSON und KELLENBERGER, so kann man an den uns zur Verfügung stehenden über 1000 Leichenserien folgende nach dem makroskopischen Bilde sich richtende Einteilung im Hinblick

auf die Hämolyse vornehmen:  
Gruppe 0 = klares gelbes Serum ohne Hämolyse; Gruppe I = leichte Rotfärbung eines sonst klaren Serums, die sich bei einer Verdünnung von einem Teil Serum zu 2 Teilen Kochsalzlösung mit dem Auge kaum noch feststellen läßt; Gruppe II = stärkere Rotfärbung eines sonst klaren Serums, die bei der in

Tabelle 1. Beziehung zwischen Hämolyse und Zeitpunkt der postmortalen Entnahme von 1000 Leichenserien in Prozenten

Zeitpunkt der Blutentnahme nach dem Tode	Nach Gruppen eingeteilte Hämolyse			
	0	I	II	III
bis 10 Std	55	27	9	9
bis 24 Std	11	26	48	15
bis 48 Std	7	27	33	33

Gruppe I angegebenen Verdünnung weiter sichtbar bleibt; Gruppe III = stärkere Rotfärbung und gleichzeitig Trübung des Serums; Gruppe IV = starke Rotfärbung, Trübung und fauliger Geruch des Serums; Gruppe V = Gewinnung kleinster Mengen eines stark dunkelblaurot gefärbten, trüben und oftmals faulig riechenden Serums aus eingedicktem Blut; in dieser Gruppe war nicht selten überhaupt keine Serumgewinnung mehr möglich.

Wir klammerten die Seren der Gruppe V für unsere Untersuchungen vorerst aus, da, wenn überhaupt, dann nur ein makroskopisch schwer verändertes Serum zu gewinnen war. Ein gleiches galt etwa für die anderen vereinzelt gewonnenen faulig riechenden Seren, die also der Gruppe IV entsprachen. Diese stammten im übrigen alle von Obduktionen, welche mindestens 24 Std nach einer ungünstigen Lagerung der Leiche durchgeführt worden waren.

Verglich man nun die restlichen Gruppen 0—III mit der Zeit der Entnahme der betreffenden Seren nach dem Tode, so ergab sich eine in Tabelle 1 dargestellte Beziehung zwischen dem Todeseintritt und der postmortalen Serumgewinnung.

Darüber hinaus ließ sich zwischen den erwähnten Gruppen 0—III und der Grundkrankheit, der Todesursache oder der Lagerung der Leiche keine verwertbare Beziehung aufdecken. Ebenfalls bestand auf Grund zusätzlicher histologischer Untersuchungen keine verwertbare Korrelation zwischen Serumveränderungen und den autolytischen Veränderungen von Leber und Nieren.

Abschließend sei zur Frage einer *bakteriellen Verunreinigung* betont, daß es uns nicht gelang, aus Leichenserien der Gruppen 0—III Bakterien zu kultivieren; selbst bei Fällen mit einer Septicopyämie konnte bei diesen Gruppen aus dem Herzen nur steriles Blut gewonnen werden (s.a. JAKOBSTHAL).

21 Seren der Gruppe 0—III von solchen Fällen (s. Tabelle 2), für die nach dem klinischen und anatomischen Befund keine Dysproteinämie oder Paraproteinämie, also „normale“ Serum eiweißwerte zu Lebzeiten zu erwarten gewesen waren, wurden herausgesucht. In den Seren der Gruppe I—III mußte allerdings dabei infolge der Hämolyse mit einem zusätzlichen Eiweißkörper, nämlich dem Hämoglobin, gerechnet werden. Dieses fehlt aber in zu Lebzeiten gewonnenen Patientenserien sowie auch in den Seren der Gruppe 0.

Es ist bekannt, daß Hämoglobin nach seinem Austritt aus Erythrocyten den elektrophoretischen Befund modifiziert (WATERSTRADT). Auf die verschiedenen Gruppen entfielen die in der Tabelle 2 aufgeführten Fälle.

Tabelle 2. *Leichenserien „in der Norm“ nach Gruppen geordnet: Durchschnittswerte der relativen Verteilung der in der Papierelektrophorese auftrennbarer Proteine*

Z = Zahl der Fälle; GE = Gesamteiweiß; Std = Zeitpunkt der postmortalen Serumentnahme nach Stunden.

Gruppe	Z	GE	Albumin	$\alpha_1$ -Globuline	$\alpha_2$ -Globuline	$\beta$ -Globuline	$\gamma$ -Globuline	Std
0	6	7,3	58,5	4,2	8,5	13,2	15,6	10—24
I	5	7,9	56,8	4,0	10,6	14,4	14,2	24—36
II	4	7,8	53,4	3,7	10,7	17,5	14,7	24—36
III	6	7,8	42,1	2,6	39,7		15,6	24—36

Tabelle 3

*Normalwerte der papierelektrophoretischen Trennung der Serumproteine aus a) WUHRMANN und MÄRKI, Mittelwert  $\pm$  bei 30 Gesunden (Angabe der Relativwerte in Prozenten), b) aus RIVA*

	Albumine	$\alpha_1$ -Globuline	$\alpha_2$ -Globuline	$\beta$ -Globuline	$\gamma$ -Globuline
a)	54,6 $\pm$ 4,0	5,2 $\pm$ 1,1	8,9 $\pm$ 1,3	11,7 $\pm$ 1,5	19,6 $\pm$ 2,1
b)	65,2 $\pm$ 4,35 (58—71,9)	4,1 $\pm$ 1,14 (3,1—6,6)	6,7 $\pm$ 1,28 (5,2—9,1)	9,8 $\pm$ 1,64 (6,1—12,0)	14,1 $\pm$ 2,92 (10,3—18,4)

Zum Vergleich mit den Werten der Tabelle 2 seien die Normalwerte nach WUHRMANN, MÄRKI und RIVA in ähnlicher Weise wiedergegeben (Tabelle 3). Es ist klar ersichtlich, daß die Werte der Gruppe 0 und I aus der Tabelle 2 in den Bereich der Werte der Tabelle 3 fallen.

Von den 1000 Leichenserien wurden dann noch weitere 20 Seren der Gruppe 0 bzw. I von Fällen mit akuter Entzündung oder frischen Nekrosen ausgewählt, bei denen aber sonst keine Veränderungen vorlagen, die zu einer Dysproteinämie hätten führen können (Tabelle 4).

Tabelle 4. Durchschnittswerte der relativen Verteilung der Serumproteine in der Papierelektrophorese aus 20 Leichenserien mit dem Reaktions-Konstellationstyp I

Fälle	Albumine	$\alpha_1$ -Globuline	$\alpha_2$ -Globuline	$\beta$ -Globuline	$\gamma$ -Globuline	Std
20	42,9	5,4	17,3	17,8	16,6	10—24

Zur Kontrolle wurden 12 zu Lebzeiten gewonnene Normalseren untersucht. Von jedem dieser Seren erzeugten wir eine der Gruppe I und II entsprechende hämolytische Rotfärbung durch Zerstörung der Erythrocyten mit einem Gewebehomogenisator, um die Bedeutung der Hämolyse für unsere Fragestellung zu klären. Auf eine der Gruppe III entsprechende makroskopische Veränderung eines Normalserums mußte verzichtet werden, weil wir die hierfür charakteristische zusätzliche Trübung künstlich nicht nachahmen konnten.

**Methodik.** Quantitative Bestimmung der Eiweißkörper aus dem Leichenserum. Der Gesamt-Eiweißgehalt der Seren wurde mittels der Biuret- und Kjeldahl-Methode bestimmt. Die Papierelektrophorese wurde sowohl von den Leichen- als auch den Vergleichsseren in einer Multephor-Kammer nach GRASSMANN und HANNIG durchgeführt, wobei die Papierstreifen mit Amidoschwarz gefärbt und im Elphor-Integraphen ausgewertet wurden. Die Auswertung der Diagramme erfolgte in der Bestimmung der Relativwerte.

Qualitative antigen-analytische Untersuchungen der Serum eiweißkörper. Zur antigen-analytischen Untersuchung führten wir einmal an den 21 Leichen- und 12 Vergleichsseren mit unterschiedlichen Hämolysestärken die Immunoelektrophorese in der Modifikation nach SCHEIDEGGER durch (genaue Methodik s. HITZIG oder HAVERKAMP). Als Antiseren dienten Antihumanseren der Behringwerke (Marburg a.d.Lahn) und der Hyland-Laboratories (Los Angeles). Weiter wendeten wir den Agar-Präzipitationstest (Ouchterlony) zur antigen-analytischen Bestimmung einzelner Serum eiweißfraktionen an (Methodik s. KORNGOLD), um ein immunologisch differentes Verhalten von Eiweißkörpern gegenüber denen von zu Lebzeiten gewonnenen Patientenserien nachweisen zu können.

### Ergebnisse

Quantitative Bestimmungen an Leichenserien „in der Norm“ (s. Tabelle 2). Bei einem durchschnittlichen Gesamteiweißwert von 7,3 g-% der 6 Seren der Gruppe 0 waren die relativen Proteinverteilungen der einzelnen Fraktionen wohl unterschiedlich hoch, sie bewegten sich jedoch annähernd innerhalb der von WUHRMANN und MÄRKI sowie RIVA angegebenen Schwankungsbreite von Normalseren. So unterschritt das Albumin selbst bei einer Serum entnahm e bis zu 24 Std nach dem Tode in keinem Falle 50 rel.-%; es lag bei einem Fall sogar erstaunlich hoch (70 rel.-%). Das  $\alpha_2$ -Globulin war nur in einem Fall mit 12 rel.-% etwas erhöht, ohne daß eine akute Entzündung nachweisbar war. Das  $\beta$ -Globulin bewegte sich gleichmäßig an der Grenze der Norm. Das  $\gamma$ -Globulin wies praktisch keine Abweichungen vom gewohnten Bilde eines Normalserums auf.

In den fünf zur Verfügung stehenden Seren der Gruppe I betrug der durchschnittliche Gesamteiweißwert 7,9 g-%. Zweimal war hier das Albumin bei einer Serum gewinnung nach 24 Std deutlich vermindert; einmal jedoch betrug bei einem erst 36 Std post mortem entnommenen Serum der Albumingehalt noch 71 rel.-%. Das  $\alpha_1$ -Globulin zeigte mit einer Ausnahme ziemlich konstante Werte, das  $\alpha_1$ -Globulin war zweimal bei einer Blutentnahme 24 Std nach dem Tode erhöht, ohne daß eine akute Entzündung oder eine Nekrose vorlag. Das  $\beta$ -Globulin

war zweimal deutlich erhöht, wobei die Blutentnahme wieder erst 24 Std nach dem Tode durchgeführt werden konnte. Das  $\gamma$ -Globulin zeigte einmal eine starke und einmal eine leichte Verminderung.

Die Seren der Gruppe II, die alle von Blutentnahmen 24 Std nach dem Tode oder später stammten, zeigten nur in zwei Fällen besondere Veränderungen: Einen Anstieg der  $\beta$ -Globulinzacke gemeinsam mit einer Vermehrung des  $\alpha_2$ -Globulins. Dabei ging das  $\alpha_2$ -Globulin fließend in den  $\beta$ -Globulingradienten über (Abb. 1). Das Albumin war dabei vermindert. Auch das  $\gamma$ -Globulin zeigte eine Tendenz zu etwas erniedrigten Werten. Der Mittelwert des Gesamteiweißes aller ausgesuchten Seren dieser Gruppe betrug im übrigen 7,8 g-%.

Ausgesprochener wurden die Veränderungen im Papierelektrophoresediagramm in der Gruppe III, die alle erst 24 Std post mortem oder später entnommen werden konnten. Dabei trat einmal eine Erhöhung des  $\alpha_2$ -Gradienten auf, zweimal kam es zu einer nicht in  $\alpha_2$ - und  $\beta$ -Globulin auftrennbare Zacke, die etwa im  $\beta$ -Globulinbereiche gelegen war (Abb. 1). Mit der Vermehrung der im  $\alpha_2$  bzw.  $\alpha_2\beta$ -Globulinbereich wandernden Proteine kam es zu einer Verminderung meist stärkeren Ausmaßes des Albumins und geringer des  $\gamma$ -Globulins. Der Gesamtprotein gehalt aller ausgesuchten Seren dieser Gruppe betrug im Durchschnitt 7,8 g-%.

Über den Abfall der Albuminwerte lässt sich folgendes aussagen: Mit der Todeszeit bestand nur insfern eine Beziehung, als einige der Seren der Gruppe 0 und I einen verminderten Albumingehalt aufwiesen, wenn die Todeszeit länger als 10 Std war. Auf der anderen Seite aber fielen gelegentlich hohe Albuminwerte selbst an Seren auf, die erst in einer postmortalen Zeitspanne von 24—36 Std entnommen werden konnten. Der niedrige Albumingehalt einiger Seren der Gruppe II und III kann dabei nicht im gleichen Maße zur Todeszeit in Beziehung gesetzt werden, weil ein stark ausgeprägter, durch Hämolyse bedingter Extragerient im  $\alpha_2$ - und  $\beta$ -Globulinbereiche zwangsläufig zu einer relativen Ver-

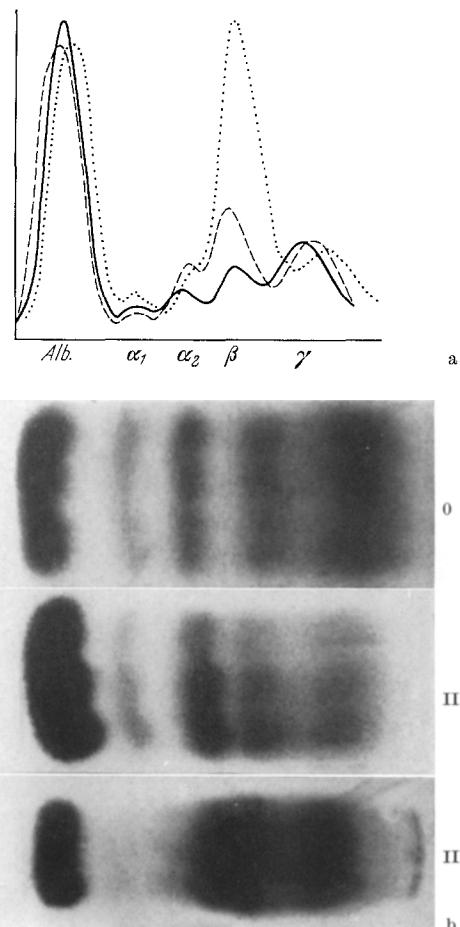


Abb. 1. a Paperelektrophoresediagramme von Leichenserien der Gruppen 0 (S.-Nr. 735/63) (durchgezogene Linie), II (S.-Nr. 711/63) (gestrichelt) und III (S.-Nr. 128/64) (gepunktet). b Darunter die zugehörigen Paperelektrophoresestreifen

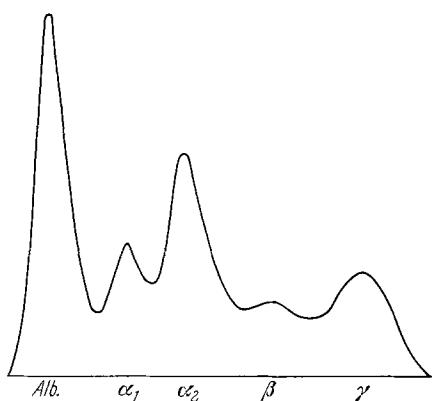


Abb. 2. Paperelektrophoresediagramm des Serums S.-Nr. 506/63 mit den Zeichen der Reaktions-Konstellation 1. Gesamteiweißgehalt 8,2 g-%; Albumin 32 rel.-%;  $\alpha_1$ -Globulin 12 rel.-%;  $\alpha_2$ -Globulin 25 rel.-%;  $\beta$ -Globulin 11 rel.-%;  $\gamma$ -Globulin 20 rel.-%

minderung aller übrigen dargestellten Proteinzacken führen muß.

Bei den zur Kontrolle untersuchten Normalseren der Gruppe 0, I und II tauchte mit zunehmender Hämolyse (Gruppe III) ein Extragradiant im  $\beta$ -Globulinbereiche auf, der mehr oder minder fließend mit dem  $\alpha_2$ -Globulin verschmolz. Entsprechend kam es zu einer Verminderung der relativen Albuminwerte.

Die paperelektrophoretische Laufstrecke betrug nach 15stündiger Laufzeit für die Proteine der 21 Leichen- und 12 Normalseren übereinstimmend 9 cm.

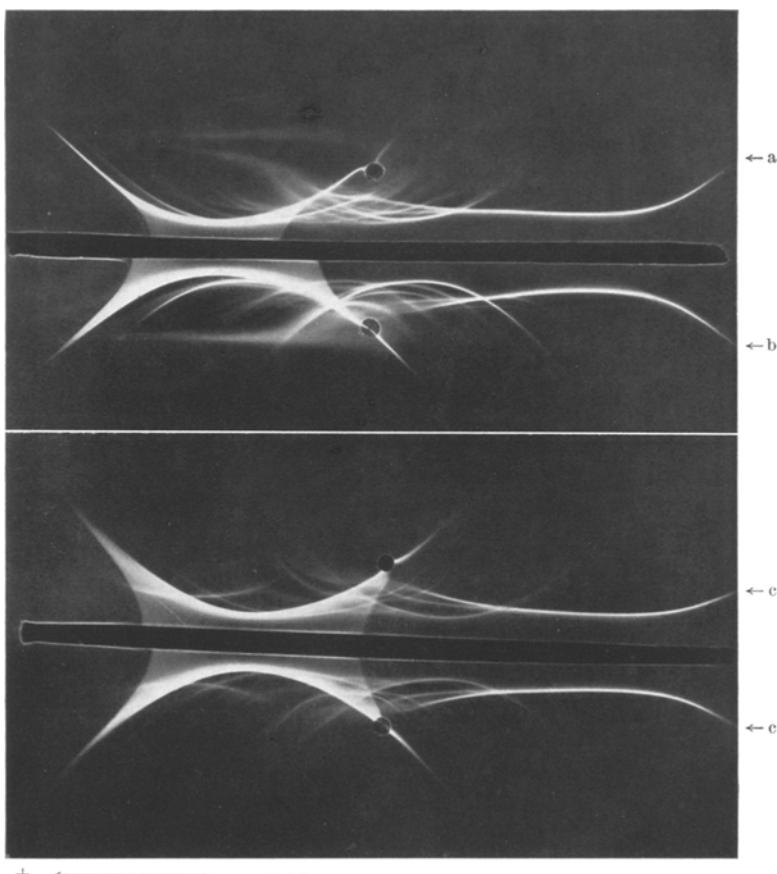


Abb. 3. Immunoelektrophoresediagramm eines Normalserums (b), eines Leichenserums der Gruppe 0 (S.-Nr. 735/64) (a) und eines Leichenserums der Gruppe III (S.-Nr. 128/64) (c). In der Antikörperrinne ein Antihumanserum der Behringwerke (vom Kaninchen)

*Quantitative Bestimmungen an Leichenserien mit dem Reaktions-Konstellations-typ I nach WUHREMANN und MÄRKI* (Tabelle 4). Hier lag mit einer Ausnahme der Albumingehalt stets unter 50 rel.- % und zwar zum Teil beträchtlich vermindert mit einem Tiefstwert von 32 rel.- %. In 5 Fällen lag das  $\alpha_2$ -Globulin über 20 rel.- %, es bildete stets eine spitzere Zacke als etwa bei einer maximalen Erhöhung eines Falles der Gruppe III der Leichenserien „in der Norm“. Die  $\alpha_2$ -Globulinerhöhung lag im Durchschnitt bei 17,3 rel.- %. Als Beispiel einer hoch akuten, frischen Entzündung haben wir das Diagramm vom Fall S.-Nr. 506/63 abgebildet (Abb. 2). Hier fand sich eine maximale  $\alpha_2$ - mit begleitender starker  $\alpha_1$ -Globulinerhöhung. Fälle mit etwas älteren Entzündungsprozessen oder Nekrosen zeigten eine begleitende  $\beta$ -Hyperglobulinämie. Das  $\gamma$ -Globulin war nur in 2 Fällen, welche erst bis 24 Std nach dem Tode obduziert werden konnten, vermindert.

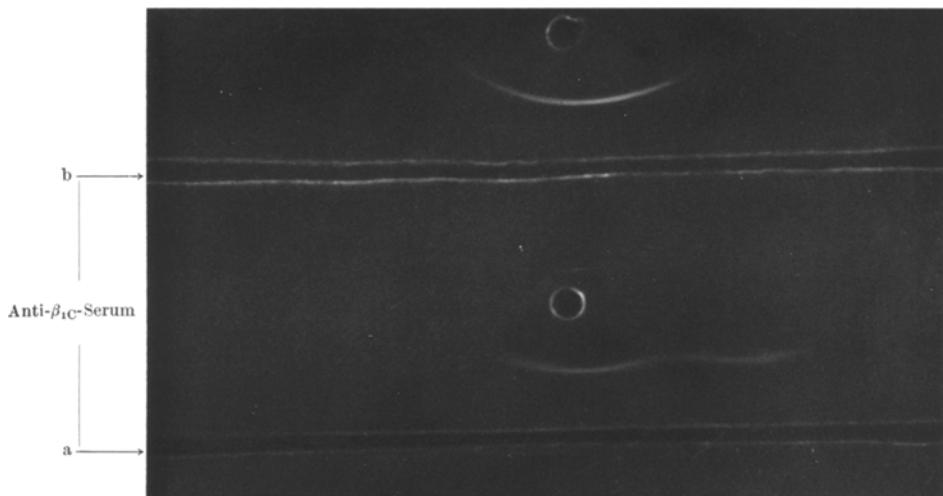


Abb. 4. Immunoelektrophoretische Darstellung des  $\beta_{1C}$ -Globulins mit einem Anti- $\beta_{1C}$ -Serum (MÜLLER-EBERHARD) aus einem frischen (Blutentnahme 24 Std post mortem, S.-Nr. 357/64) (b) und des  $\beta_{1A}$ -Globulins aus einem 10 Tage alten, im Eisschrank aufbewahrten Leichenserum (a) (S.-Nr. 357/64)

*Qualitative antigen-analytische Untersuchungen der Serumeiweißkörper.* Bei der immunoelektrophoretischen Analyse boten alle 21 Leichenserien „in der Norm“ der Gruppen 0—III den gleichen elektrophoretischen und antigen-analytischen Befund, so daß das Ergebnis dieser Untersuchungen gemeinsam besprochen werden kann (Abb. 3). Ein gleiches gilt für Diagramme der 12 Normalseren mit artifiziell erzeugter, unterschiedlich hoher Hämolyse: Aufsplitterung, Verdopplung der Linien, eine mangelhafte oder gar fehlende Präcipitation der im normalen menschlichen Serum mit Antihumanseren stets nachweisbaren Proteinpräcipitationen wurde in keinem der untersuchten Seren gesehen. Mit speziellen Antiseren waren folgende, immunologisch näher charakterisierte Proteine darstellbar: Das Präalbumin, das Albumin, das  $\alpha_1$ - und  $\alpha_2$ -Lipoprotein, das  $\alpha_2$ -Makroglobulin, das  $\beta_1$ -Lipoprotein, das  $\beta$ -Transferrin, das  $\gamma_{1A^-}$ , das  $\gamma_{1M^-}$  und  $\gamma_2$ -Globulin. Auch das  $\beta_{1C}$ -Globulin ließ sich in frischen und sogar in einige Tage alten Leichenserien nachweisen, ohne daß ein Übergang in das  $\beta_{1A}$ -Globulin sichtbar gewesen wäre (Abb. 4). Erst eine Lagerung der Leichenserien von mehr als 10 Tagen im Eisschrank verdeutlichte bei Verwendung eines  $\beta_{1C}$ -Serums die vollzogene Umwandlung in das  $\beta_{1A}$ -Globulin, wie es vom Normalserum Lebender bekannt ist. Das

Fibrinogen war mit einem Antifibrinogenserum in den untersuchten Leichenserien nicht auffindbar.

Beim *Agar-Präcipitationstest* zur antigen-analytischen Bestimmung einzelner Serumweißfraktionen in der Technik nach KORNGOLD waren unter Verwendung

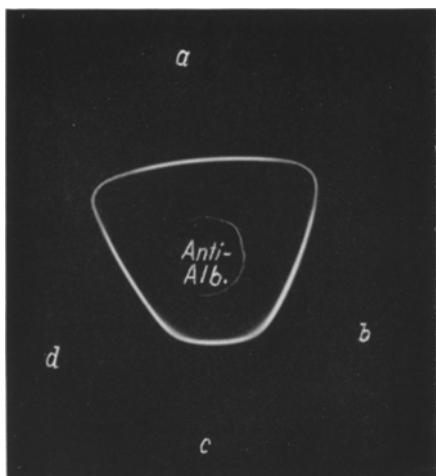


Abb. 5. Zweidimensionaler Agar-Präcipitationstest nach OUCHTERLONY. Zentrales Loch: Anti-Albuminserum (Behringwerke). Loch *a* und *c*: Normalserum 1:100; Loch *b* und *d*: Leichenserum „in der Norm“ 1:100 verdünnt (S.-Nr. 735/63). Vollkommene Ver schmelzung der Präcipitate

man auch häufiger das  $\alpha_2$ -Coeruloplasmin und das  $\alpha_2$ -Makroglobulin deutlicher als gewohnt dargestellt. Uncharakteristisch war die Präcipitation der Globuline im  $\beta$ - und  $\gamma$ -Globulingebiet.

### Diskussion

Für unsere Fragestellung wäre es eine ideale Lösung gewesen, wenn wir kurze Zeit vor dem Tode und in verschieden langen Abständen nach dem Tode nicht nur eine Papierelektrophorese, sondern auch eine immunoelektrophoretische Analyse, eine Rest-N-Bestimmung, eine quantitative immunologische Bestimmung des Albumingehaltes, eine Hämoglobinbestimmung und Keimzählungen von ein und demselben Fall jeweils hätten durchführen können. Solche Möglichkeiten standen uns jedoch aus äußeren Gründen nicht offen. Wohl lagen in etwa 10% unserer Obduktionsfälle etwa 8 Tage bis 4 Wochen vor dem Tode angefertigte Papierelektrophoresestreifen vor; diese gestatteten aber bloß einen annähernden Vergleich (s. HAVERKAMP), weil sich zu Lebzeiten innerhalb von Tagen die Elektrophoresewerte erheblich verändern können. Von diesen Vergleichswerten waren im übrigen keine neuen Ergebnisse zu erwarten, die über die von ROBINSON und KELLENBERGER erhobenen Befunde hinausgingen. Weiter lag bei fast keinem der uns zur Verfügung stehenden Leichenserien eine prämortal durchgeführte immunoelektrophoretische Analyse vor.

Überblicken wir zuerst unsere makroskopisch an über 1000 untersuchten Leichenserien erhobenen Befunde, so fanden wir bei bis 10 Std nach dem Tode entnommenen Seren bis zu 55% keine Hämolyse und keinerlei Fäulniszeichen.

spezieller Antiseren das Albumin, das  $\gamma_2$ -, das  $\gamma_{1M}$ - und das  $\gamma_{1A}$ -Globulin sowie das Transferrin in allen 21 Leichenserien „in der Norm“ darstellbar. Verglich man in einem Parallelansatz die in Rede stehenden Präcipitate mit den gleichen Proteinen aus Normalseren, so zeigte sich eine vollkommene antigene Gemeinschaft, d.h. bis zu hohen Verdünnungen vereinigten sich die Präcipitate, ohne daß an der Grenze zweier Präcipitate eine Kreuzung oder nur ein teilweiser Übergang beider Präcipitate ineinander zu verzeichnen gewesen wäre (Abb. 5).

Die immunoelektrophoretische Analyse der Seren des Reaktions-Konstellationstyps I wies eine verstärkte Präcipitation der  $\alpha_1$ -Glykoproteine, besonders des  $\alpha_1$ -Orosomucoids sowie im  $\alpha_2$ -Bereiche des  $\alpha_2$ -Haptoglobins auf. Daneben sah

Weitere 27% der Seren mußten der Gruppe I zugeordnet werden. Somit erwiesen sich also orientierend 82% der Leichenserien, die bis 10 Std post mortem entnommen waren, für diagnostische Untersuchungen (insbesondere auch für die Papierelektrophorese) als geeignet. Nach 24 Std waren nur noch 37%, nach 48 Std lediglich noch 34% diagnostisch verwertbar.

SCHLEYER nennt das „hämolytische Plasma eine typische Leichenerscheinung“. Nach unseren Erfahrungen kann jedoch selbst 36 und sehr selten 48 Std nach dem Tode in manchen Fällen ein hämolysefreies und völlig klares Serum gewonnen werden. Allein schon wegen dieses Befundes der zeitlich sehr unterschiedlich eintretenden Hämolyse können wir mit SCHLEYER feststellen, daß die Hämolyse nicht zur Todeszeitbestimmung herangezogen werden kann.

Bei der quantitativen Untersuchung unserer Leichenserien hat sich ergeben, daß der Gesamteiweißgehalt bis 36 Std nach dem Tode für Seren der Gruppe 0 bis III etwa der Norm bzw. der oberen Grenze der Norm entspricht; in den Seren der Gruppen 0 und I kann man mit einem der Norm entsprechenden Papierelektrophoresediagramm rechnen — d.h. nicht bzw. leicht hämolytische Leichenserien behalten ihre volle papierelektrophoretische Auftrennbarkeit —, welches bei weiter steigender Hämolyse durch einen Extragradienten in  $\alpha_2\beta$ -Position verfälscht wird. Dieser Extragradient kann ein etwa von Paraproteinämien her gewohntes Ausmaß annehmen, unterscheidet sich aber durch seine größere Breite und den fließenden Übergang des  $\alpha_2$ - in den  $\beta$ -Globulingipfel. Das Albumin war in den Seren der Gruppen 0 und I fast stets normal hoch, bei Seren der Gruppe II keineswegs signifikant erniedrigt.

Die Auswirkung der Hämolyse auf das Papierelektrophoresediagramm wird in der Literatur (WUHRMANN und MÄRKI, RIVA, SCHLEYER, BENEKE, ROBINSON und KELLENBERGER) betont. Wir können diese Feststellung lediglich für Seren der Gruppen II und III bestätigen. Der Albuminschwund im Leichenserum (BENEKE, SCHLEYER) ist nach unseren Befunden zumindest in den ersten 10 Std nach Todseintritt nicht so bedeutsam. Diese Feststellung stimmt überein mit Ergebnissen von ROBINSON und KELLENBERGER, die papierelektrophoretisch vergleichbare prä- und postmortale Verhältnisse in 76% der untersuchten Fälle erzielten und den relativen Albuminschwund des Leichenserums vom Ausmaß der Hämolyse abhängig machten. Auf Grund dieser Tatsachen glaubten wir uns berechtigt, zur Stützung unserer Ergebnisse Leichenserien von Patienten heranziehen zu können, welche nach der Grundkrankheit oder Todesursache im Serum eine reaktive Dysproteinämie von der Reaktions-Konstellation 1 nach WUHRMANN und MÄRKI aufweisen mußten. Tatsächlich war es möglich, diesen Dysproteinämietyp am Leichenserum wiederzufinden, sofern es sich um Seren der Gruppen 0 oder I handelte. Neben der typischen  $\alpha_2$ -Globulinvermehrung war in Fällen mit ganz frischen Entzündungen oder Nekrosen eine starke  $\alpha_1$ -Globulinerhöhung (eine starke  $\alpha_1$ -Hyperglobulinämie ist im Rahmen einer akuten Entzündung nach WUHRMANN und WUNDERLY prognostisch ungünstig), bei etwas älteren Prozessen eine  $\beta$ -Hyperglobulinämie vorhanden. Die maximalen  $\alpha_2$ -Globulinerhöhungen überschritten dabei die von WUHRMANN und MÄRKI für Patientenserien angegebene Grenze von 22—25 rel.-% nicht.

Berichte über das qualitative Verhalten der Serumeiweißkörper in postmortalen Seren liegen von LEITHOFF und LEITHOFF sowie HAVERKAMP vor.

LEITHOFF und LEITHOFF untersuchten die Widerstandsfähigkeit der Serumproteine gegenüber der Proteolyse mit der Absicht, aus ihrem Verhalten Rückschlüsse auf die Todeszeitbestimmung zu ziehen. Sie stellten fest, „daß der Fortschritt der Fäulnis der Leiche nicht in jedem Falle eine sichere Todeszeitbestimmung erlaube und die Immunoelektrophorese dementsprechend keine wesentliche zusätzliche Information über die Todeszeitbestimmung liefere“. Als Ausdruck postmortaler Proteolyse sahen die genannten Autoren u.a. Bruchstücke des Albumins und des  $\gamma$ -Globulins, wobei die Antigenität der Bruchstücke erhalten geblieben war.

Unsere vergleichenden antigen-analytischen Untersuchungen mit Normalseren ergaben an 21 Leichenserien „in der Norm“ folgendes: Im nicht-hämolytischen und hämolytischen Serum (auch der Gruppe III) sind bis 36 Std nach dem Tode mit polyvalenten Antihumanseren alle Präcipitatbögen in der immunoelektrophoretischen Analyse nachweisbar, welche in Normalseren dargestellt werden. Die Präcipitate zeigen darüber hinaus weder in ihrer Form noch in ihrer Lokalisation Abweichungen vom Normalbild. *Es ist also die immunoelektrophoretische Analyse eines Leichenserums direkt vergleichbar den intravitalen Verhältnissen und somit für diagnostische Zwecke nutzbar zu machen.* Der durch Hämolyse bedingte  $\alpha_2\beta$ -Gradient in der Papirelektrophorese wirkt sich antigen-analytisch keinesfalls störend aus. Eine starke Hämolyse ließe lediglich erwarten, daß Globuline, die eine Schlepperfunktion für freigeschiedenes Hämoglobin besitzen, ihre Mobilität im elektrischen Feld veränderten (GRABAR). Eine Verlangsamung der Wanderungsgeschwindigkeit des  $\alpha_2$ -Haptoglobins sahen wir jedoch nicht; dies erklärt sich offenbar durch die Anwendung eines Boratpuffers im Unterschied zu GRABAR, der einen Veronalpuffer verwendete. Der immunoelektrophoretischen Analyse kommt gegenüber der Papirelektrophorese die Spezifität einer immunologischen Reaktion zwischen dem Antikörper und seinem homologen Antigen zugute, so daß man diese Tatsache dazu verwenden kann, quantitative Aussagen über ein gegebenes Serum, das vergleichend mit einem Normalserum untersucht wird, zu machen (MEDGYESI und KOCH, WUHRMANN und MÄRKI). Somit kann man diese Methode zur Gewinnung eines Einblickes in ein stark hämolytisches Serum verwenden. In frischem Leichenserum kann das  $\beta_{1C}$ -Globulin dargestellt werden, welches nach MÜLLER-EBERHARD die 3. Komplement-Komponente darstellt. In mehr als 10 Tage alten, im Eisschrank gelagerten Leichenserien findet man, wie in einem unter gleichen Bedingungen aufbewahrten Normalserum, statt des  $\beta_{1C}$ -Globulins das  $\beta_{1A}$ -Globulin, welches sich aus dem ersten entwickelt hat (MÜLLER-EBERHARD, HITZIG).

Nach all diesen Befunden greifen postmortale Veränderungen im allgemeinen die Serumeiweißkörper innerhalb der ersten 36 Std nach dem Tode nicht so stark an, daß eine Autolyse oder bakterielle Zersetzung mit den uns heute zur Verfügung stehenden Methoden am Serumproteinmolekül nachweisbar wäre. Insbesondere lassen immunologische Reaktionen im Agar-Präcipitationstest nach KORNGOLD mit speziellen Antiseren vergleichend mit einem Normalserum keine Veränderung der antigenen Determination erkennen.

### Zusammenfassung

Das Verhalten der Serumeiweißkörper in Leichenserien „in der Norm“ und mit der Reaktions-Konstellation I überschreitet nicht den Variationsbereich von

Normal- bzw. Patientenserien, wenn das zu untersuchende Serum nicht hämolytisch oder nur sehr leicht hämolytisch ist. Mit zunehmender Hämolyse macht sich vor allem in der Papierelektrophorese das Hämoglobin in Form eines Extra-gradienten im  $\alpha_2\beta$ -Globulinbereich als Störfaktor bemerkbar und führt zu einer Verfälschung der relativen Eiweißwerte der einzelnen Fraktionen. Antigenanalytisch war es uns nicht möglich, am Leichenserum, das bis 36 Std nach dem Tode gewonnen werden konnte, Veränderungen an den Serum eiweißkörpern nachzuweisen. Man kann die Untersuchung des Leichenserums innerhalb der abgesteckten Grenzen als eine wesentliche Bereicherung der pathologisch-anatomischen Diagnostik ansehen.

### Studies of the Serum Proteins from Cadavers

### from "Normal" Cases and from Cases of Acute Inflammation and Necrosis

#### Summary

The behavior of the serum proteins of "normal" cadavers having the reaction constellation I does not exceed the range of variation of normal serum (from normal patients), if the serum is not hemolyzed, or if it is only slightly hemolyzed. With increasing hemolysis the hemoglobin becomes visible, especially with paper electrophoresis, as an extra gradient in the  $\alpha_2\beta$ -globulin fraction. The hemoglobin adulterates the relative protein values of the individual fractions. By antigen analytic methods, we were not able to demonstrate changes of the serum proteins in cadaver serum which was obtainable up to 36 hours after death. One may regard the study of cadaver serum within the limits mentioned as an essential aid in pathologic-anatomic diagnoses.

#### Literatur

- BENEKE, G.: Zur Frage der Verwendbarkeit von Leichenserien zur Papierelektrophorese (experimentelle Untersuchungen an der Ratte). Zbl. allg. Path. path. Anat. **99**, 389—392 (1959).
- BERG, ST. P.: Das postmortale Verhalten des Blutes. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **40**, 1—75 (1950).
- ENGELBERG, H.: Studies of human serum and plasma inhibition of lipase activity of post-heparin clearing factor. Amer. J. clin. Path. **38**, 367—370 (1962).
- GRABAR, P., et P. BURTIN: Analyse immuno-électrophorétique. Paris: Masson & Cie. 1960.
- HAFERKAMP, O.: (1) Ein tierexperimenteller Beitrag zur Immunopathologie der Speicheldrüsen. Virchows Arch. path. Anat. **335**, 298—322 (1962).  
— (2) Immunbiologische und immunhistologische Untersuchungsmethoden an Leichenorganen und Leichenserien. Protides of the Biological Fluids. Amsterdam: Publ. Co. Elsevier 1964.  
— (3) Vergleichende serumanalytische und pathologisch-anatomische Untersuchungen bei Paraproteinämien. Verh. Dtsch. Ges. Path. **48**. Tagg 1964, S. 230—234.
- HEREMANS, J.: Les globulines sériques du système gamma. Bruxelles: Arscia S. A. 1961; Paris: Masson & Cie. 1961.
- HITZIG, W. H.: Praktische und theoretische Ergebnisse neuerer Bluteiweißuntersuchungen. Schweiz. med. Wschr. **90**, 4449 (1960).
- Zur quantitativen Bestimmung spezifischer Proteinfraktionen. Int. Arch. Allergy **19**, 145—167, 284—311 (1963).
- Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
- IM OBERSTEG, J.: Tod und Blutgerinnung. Experimentelle Untersuchungen über das postmortale Verhalten des Blutes in der 2. Phase der Blutgerinnung. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **43**, 177—216 (1954).
- JACOBSTHAL, E.: In: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. VIII, Teil 1/II, S. 967—1092. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1935.

- KORNGOLD, L.: Abnormal plasma components and their significance in disease. Ann. N.Y. Acad. Sci. **94**, 110—130 (1961).
- G. VAN LEEUWEN, and R. I. ENGLE: Diagnose of multiple myeloma and macroglobulinemia by the Ouchterlony gel diffusion technique. Ann. N.Y. Acad. Sci. **101**, 203—220 (1962).
- LAURENT, B.: Non-specific haemoglobin binding of human serum globulins in immunoelectrophoresis. Nature (Lond.) **202**, 1121—1122 (1964).
- LEITHOFF, H., u. J. LEITHOFF: Immunoelektrophoretische Differenzierung der Proteine faulen Leichenblutes. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **54**, 286—296 (1963).
- MEDGYESI, G., u. F. KOCH: Über die semiquantitative Proteinbestimmung in der Immuno-elektrophorese. Klin. Wschr. **42**, 939—942 (1964).
- MOORE, CH. L., J. C. PRUITT, and J. H. MEREDITH: Present status of cadaver blood as transfusion medium. Arch. Surg. **85**, 364—370 (1962).
- MÜLLER-EBERHARD, H. J.: Two proteins of the human serum related to the complement system. Ann. N.Y. Acad. Sci. **94**, 4—13 (1961).
- H. NILSSON, and T. ARONSSON: Isolation and characterization of  $\beta_1$ -glykoproteins of human serum. J. exp. Med. **111**, 201—234 (1960).
- ORTH, J.: Pathologisch-anatomische Diagnostik nebst Anleitung zur Ausführung von Obduktionen sowie von pathologisch-histologischen Untersuchungen, VII. Aufl. Berlin: August Hirschwald 1909.
- OUCHTERLONY, Ö.: Antigen-antibody reactions in gels. Acta path. microbiol. scand. **26**, 507—515 (1949).
- PUTNAM, F. W.: The plasma proteins, vol. 1 and 2. New York and London: Academic Press 1960.
- RIVA, G.: Das Serum-eiweißbild. Bern u. Stuttgart: Huber 1960.
- ROBINSON, D. M., and R. E. KELLENBERGER: Comparison of electrophoretic analyses of antemortem and postmortem serums. Amer. J. clin. Path. **38**, 371—377 (1962).
- SATOH, T., A. SANAKA, and K. MATSUMOTO: Studies on the liquid blood of the cadaver after sudden death. In: Arch. Shinshu Univ. **3** (1953). Zit. nach J. IM OBERSTEG.
- SCHEIDEGGER, J. J.: Une micro-méthode de l'immunoélectrophorése. Int. Arch. Allergy **7**, 103—110 (1955).
- SCHLEYER, F.: Papierelektrophoretische Untersuchungen des Eiweißbildes von Leichenserien. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. **221**, 306—311 (1954).
- Über physikalische, chemische, hämatologische und histologische Methoden der Todeszeitbestimmung. Zbl. alg. Path. path. Anat. **99**, 509—515 (1959).
- SCHOTTMÜLLER, H.: Problem der Sepsis. Eppendorfer Festschr. S. 149. Hamburg: L. Voss 1914.
- SCHULTZE, H. E.: Plasmaproteinforschung im Zeichen des Eiweißstrukturproblems. Verh. Dtsch. Ges. Innere Med. **66**. Tagg 1960, S. 225—249.
- , u. K. HEIDE: Der neueste Stand der Plasmaproteinforschung. In: Medizinische Grundlagenforschung, Bd. III. Stuttgart: Georg Thieme 1960.
- VORLAENDER, K. O.: Immunologische Untersuchungen bei entzündlich-rheumatischen Erkrankungen. In: P. MIESCHER u. K. O. VORLAENDER, Immunopathologie in Klinik und Forschung, 2. Aufl., S. 436—500. Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- WATERSTRADT, K.: Über die Stabilität der Serumproteine. Beitrag zur elektrophoretischen Untersuchungsmethode. Ärztl. Forsch. **6** (I), 181—184 (1952).
- WUHRMANN, F.: Klinik der Bluteiweißkörper unter besonderer Berücksichtigung der Dys- und Paraproteinämien. Helv. med. Acta **12**, 712—718 (1945).
- , u. H. H. MÄRKI: Leukocyten, Serumproteine und retikulo-endotheliales System. Schweiz. med. Wschr. **90**, 1003 (1960).
- — Dysproteinämien und Paraproteinämien. Basel u. Stuttgart: Benno Schwabe & Co. 1963.
- , u. CH. WUNDERLY: Die Bluteiweißkörper des Menschen, 1. Aufl. 1947, 2. Aufl. 1951, 3. Aufl. Basel: Benno Schwabe 1957.

Priv.-Doz. Dr. O. HAERKAMP

53 Bonn-Venusberg

Pathologisches Institut der Universität Bonn