

(Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin in Cluj, Rumänien.
Direktor: Prof. Dr. N. Minovici.)

Kritische Untersuchungen über histologische und histo-chemische Veränderungen bei der Leichenfäulnis, in Beziehung zur Todeszeitbestimmung.

Von

Prof. Dr. N. Minovici, Dr. M. Kernbach und Dr. C. Cotuțiu,
Assistenten des Instituts.

Mit 6 Textabbildungen.

Das histologische Studium der Leichenfäulnis ist in letzter Zeit in systematischer Weise wieder aufgenommen worden. Nachdem es eine kasuistische Phase durchgemacht hatte, in der an exhumierten Leichen versucht wurde, aus histologischen Befunden:

1. die Identität festzustellen;
2. die Todesursache zu bestätigen oder zu ermitteln (histo-pathologische Diagnostik);
3. das Datum des eingetretenen Todes zu bestimmen, ist man nun auch zum experimentellen Studium der Fäulnis übergegangen.

Innerhalb gewisser Möglichkeitsgrenzen kann man die beiden ersten Fragen schon beantworten, während die dritte noch ein weiteres Studium beansprucht.

Der Zeitpunkt des Todes ist und bleibt ein Problem, welches noch zahlreiche und eingehende Untersuchungen erfordert. Die Wege, die bisher eingeschlagen wurden, haben nur zu Ergebnissen von größerer oder geringerer Wahrscheinlichkeit geführt, weil im Verlauf der Fäulnis eine ganze Reihe von Faktoren wesentlichen Einfluß nehmen.

Wir wollen unter diesen anführen:

1. Makroskopische und physikalische Methoden (Kennzeichen des Todes und der Fäulnis).

2. Chemische Methoden. a) Feststellung von Abbausubstanzen des Kadavers, wie Ptomaine usw.; b) die durch Gewebshydrolyse entstandenen Produkte, wie Aminosäuren, Fäulnisgase H_2S und NH_3 ; c) dann die Übergangsprodukte der Oxyhämoglobinumwandlung, das Verschwinden und die Umwandlung des Glykogens, des Eisens usw.

3. Physikalisch-chemische Methoden. Die Änderung des p_H in den Leichenflüssigkeiten, die Bestimmung ihrer Gefrierpunktserniedrigung usw.

4. Bakteriologische und mykologische Methoden zum bakteriologischen Studium der Fäulnis.

5. Zoologische Methoden zum Studium der Fauna des Kadavers.

6. Histologische Methoden. Veränderungen verschiedener Gewebe, der roten Blutkörperchen, Umwandlung des Knochengewebes.

7. Histo-chemische Methoden: Hydrolyse, Autolyse und Verseifung der Gewebe.

Von all diesen zahlreichen Methoden werden die beiden letzten, die histologische und histo-chemische, weiter studiert und ausgebaut.

Die histo-chemische Methode wurde in experimenteller Weise zuerst von *Kernbach*, *Fisi* und *Berariu* angewendet, welche die Veränderungen des Fettgewebes durch die Fäulnis studierten. Es waren die ersten grundlegenden Versuche, die den Ausgangspunkt für eine ganze Reihe weiterer Forschungen bildeten. Diese Methode wurde später von *Mangili* aufgenommen, der jedoch zu anderen Ergebnissen gelangte, als die ersten Untersucher. Er behauptet trotzdem, daß durch diese Methode Variationen in der Affinität zu Farbstoffen, in dem Erscheinen krystallinischer oder amorpher Massen im Muskel- und Fettgewebe nachweisbar sind.

Die Histologie der Fäulnis wurde systematisch und in einer weit größeren Anzahl von Fällen (60) von *Walcher* im Institut von Prof. *Merkel* untersucht. Dieser Autor studiert die Fäulnis nach Organen und in verschiedenen Medien, weist das Eindringen der Mikroben wie auch die Produkte der Hydrolyse nach; so daß seine Arbeit eine der ausführlichsten auf diesem Gebiete ist. Wir bedauern, daß seine Ergebnisse nicht auf übersichtlichen Tabellen, nach Organen und Tagen wiedergegeben wurden, was bei vergleichenden Arbeiten ein anschaulicheres Bild ergeben hätte.

Wir wollen uns hier nicht damit aufhalten, die Namen sämtlicher Autoren anzuführen, die sich mit diesem Problem befaßt haben, da die Arbeit des Kollegen *Walcher* schon ein vollständiges Literaturverzeichnis enthält.

In den Untersuchungen, welche wir hier veröffentlichen, haben wir den Versuch unternommen, einen Teil der histologischen Methoden zum Studium der Fäulnis einer Nachprüfung zu unterwerfen, um das brauchbarste Verfahren zur Ermittlung des Todesdatums herauszufinden.

Eigene Versuche.

Material.

Zwei durch Erhängen getötete Hunde wurden in 2 Sägespäne enthaltenden Holzkisten in einer Tiefe von 30 cm vergraben. Das Datum des Vergrabens war der 27. April 1928; die Ausgrabung wurde, wie aus nebenstehender Tabelle erschen werden kann, nach 8—10 Tagen

vorgenommen. Die Untersuchungen dauerten 184 Tage, da die letzte Probe am 3. XI. 1928 entnommen wurde, was einer Zeit von 6 Monaten entspricht.

Die Organe konnten bei dem ersten Hunde 71 Tage nachgewiesen werden. Nach dieser Zeit waren sie in eine gleichmäßige, halbflüssige Masse umgewandelt und ihre Agnoszierung nicht mehr möglich. Hierauf wurde der 2. Hund ausgegraben. Bei diesem konnten die einzelnen Organe noch bis zum 92. Tage erkannt werden, nach welchem Datum die Verwesung schon sehr vorgeschritten war. Die peripheren Muskeln waren jedoch bis zum Schlusse deutlich erkennbar.

Die angewendeten Methoden wurden mehrmals ausgeführt, da wir feststellen wollten, von welchen dieser histologischen Verfahren die meisten Leichenveränderungen angezeigt werden, um hieraus ersehen zu können, welche dieser Methoden praktisch die genauesten Resultate bei der Bestimmung des Todesdatums ergäben.

Wir geben eine Übersicht unserer Resultate nach den angewandten Methoden und den verschiedenen Organen:

Bakterienfärbung nach Ehrlich.

| Tage der Fäulnis | Lungen | Herz | Leber | Niere | Muskeln | | | |
|------------------------|--------------------|------|-------|-------|--------------------|-----------------------|------------------|-------------------|
| | | | | | M. pecto- ralis | M. inter- costalis | Bauch- muskel | Fußmuskel |
| 10 | + | + | 0 | 0 | fehlt | | | |
| 22 | fehlt | + | 0 | + | 0 | . | . | . |
| 28 | + | + | + | + | + | . | . | . |
| 39 | + | + | + | fehlt | 0 | . | . | . |
| 53 | 0 | + | + | + | . | . | . | 0 |
| 62 | + | ++ | . | . | + | . | . | + |
| 71 | Organe verflüssigt | | | | . | . | + | . |
| 92 | desgl. | | | | . | . | + | + |
| 105 | " | | | | . | . | ++ | ++ |
| 117 | " | | | | . | . | . | + |
| 148 | " | | | | . | . | . | + |
| 155 | " | | | | . | . | . | Rücken- muskel |
| 168 | " | | | | . | . | . | + |
| 184 | " | | | | . | . | . | 0 |

Färbung der Bakterien nach der Ehrlich'schen Methode.

Die Proben wurden in Formol fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Färbung wurde nach der Methode von *Ehrlich* in Schnitten vorgenommen.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, erschienen die Mikroben sehr frühzeitig, nämlich fast in allen Organen schon am 10. Tage nach dem Vergraben. Das einzige Organ, in welchem sie erst später erschienen, war

die Leber, und zwar wurden sie in ihr zuerst zwischen dem 22. bis 28. Tage festgestellt. Das gleiche gilt auch von den peripheren Muskeln, in denen sie nicht gleichzeitig auftraten. So fanden sich im *Musculus pectoralis* bis zum 22. Tage keine Mikroben; sie erschienen erst später. In den Muskeln der hinteren Extremitäten traten die Mikroben sogar erst nach dem 50. Tage auf. Von diesem Datum an sind sie im interstitiellen Muskelgewebe ständig anzutreffen.

Morphologisch handelt es sich um Kokken und Sporenbacillen. Diese erscheinen zuerst und erst dann die Kokken. Selbstverständlich ist die Identifizierung der Mikroben auf diesem Wege unmöglich. Übrigens haben neuerdings vorgenommene bakteriologische Untersuchungen auch nicht zur sicheren Ermittlung bestimmter Mikrobentypen geführt.

Bezüglich der Eintrittswege der Bakterien in die Organe heben wir hervor, daß wir sie im Innern der Gefäße nie gefunden haben. Das Gefäßsystem bewahrt seine histologische Struktur bis in die spätesten Epochen der Fäulnis, zeigt aber weder in den Wandungen noch in der Lichtung Bacillen, Kokken oder Sporen. In einigen Schnitten konnte man mit stärker vergrößernden Objektiven Mikroben innerhalb der Lymphgefäße wahrnehmen. Regelmäßig jedoch und in größten Mengen fanden sie sich im Interstitium. Dieses muß daher die Eintrittspforte und das Gebiet der Tätigkeit der Bakterien während der Fäulnis darstellen.

Kritik der Methode. Was die Chronologie der Erscheinungen während der Fäulnis betrifft, haben sämtliche Untersuchungen, welche bisher über die Bakteriologie der Fäulnis angestellt wurden, seien es nun rein bakteriologische Verfahren oder Färbungsmethoden (welche übrigens mit unseren identisch sind), zu keinem praktischen Resultate geführt. Die vor kurzem angestellten bakteriologischen Untersuchungen von *Romanese* und *Tore* zeigen die Aufeinanderfolge verschiedener Anaerobier mit dem Ergebnis, daß die Reihenfolge keinerlei Schlüsse in dem bewußten Sinne erlaubt. Auch die histologischen Untersuchungen, die erst kürzlich von *Walcher* an einer weit größeren Anzahl von menschlichen Leichen ausgeführt wurden, hatten dasselbe Resultat: die Mikrobeninvasion erfolgte sehr frühzeitig. Wir hatten Gelegenheit, uns bei 2 älteren menschlichen Leichen — sie wurden 2 und 7 Tage nach dem Tode obduziert — davon zu überzeugen, daß die meisten Organe schon Mikroben enthielten. Die bakteriologische Methode hat somit sehr eng gezogene Grenzen und kann deshalb nur in den ersten Tagen nach dem Tode angewandt werden.

Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. Übliche Technik. Einbettung in Paraffin und Gelatine.

Diese Methode wurde nur zum Vergleich mit dem histologisch-chemischen Verfahren, welches von einem von uns (*Kernbach*) in die For-

sungen über die Fäulnis eingeführt wurde, angewendet. Sie ist von den meisten Untersuchern benützt, aber unzureichend gefunden worden zum Nachweis der Mehrheit der Fäulniserscheinungen in den Geweben.

Diese Methode verfolgt:

1. das Verschwinden der Kerne;
2. das Verschwinden der morphologischen Struktur der Gewebe.

Nach Organen geordnet, konstatierten wir folgendes:

Herz: Die Kerne verschwanden schon vom 11. Tage an. Die Muskelfasern zeigten anfangs bis zum 39. Tage eine hämatoxylinophile Reaktion, verloren hierauf diese Eigenschaft und wurden eosinophil. Beim 1. Hunde, welcher auch geöffnet blieb, war das Herz nach dem 17. Tage unerkennbar; beim zweiten war es nach dem 92. Tage histologisch nicht mehr erkennbar, nach dem 105. Tage überhaupt nicht mehr auffindbar.

Leber: Die Kerne verschwanden zu gleicher Zeit wie im Herzen. Dieses Organ verlor aber rascher seine charakteristische histologische Struktur (am 28. Tage). Makroskopisch verschwand die Leber zusammen mit dem Herzen durch den Einschmelzungsprozeß. In der Leber erschienen nach dem 53. Tage einige Krystalle, mit welchen wir uns im histologisch-chemischen Teile dieser Abhandlung befassen werden.

Lungen: Die Kerne waren hier widerstandsfähiger; sie färbten sich sogar noch am 22. Tage der Fäulnis. Die histologischen Eigentümlichkeiten verloren sie zu gleicher Zeit wie die Leber. Das Organ verflüssigte sich gleichzeitig mit den übrigen bisher beschriebenen Organen. Beim 2. Hunde traten nach dem 80. Tage Krystalle auf.

Nieren: Dieses Organ erschien gegen die Fäulnis noch widerstandsfähiger, da wir noch nach dem 28. Tage gefärbte Kerne fanden. Die histologische Organstruktur war bis in die letzten Tage erhalten und verlor sich erst mit der Verflüssigung.

Gestreifter peripherer Muskel: Die Kerne verschwanden hier sehr rasch und zwar schon in den ersten Schnitten. Die Organstruktur erhielt sich jedoch bis zum Schlusse (184 Tage). Wie das Herz, zeigte auch der Muskel bald hämatoxylinophile, bald oxyphile Eigenschaften. Vom 117. Tage an färbte er sich immer schwächer und in der Muskelmasse traten farblose Inseln und Krystalle auf (bei dem 1. Hunde schon nach dem 192. Tage).

An diesem Organe konnte man vom 148. Tage an ein sehr wichtiges Phänomen wahrnehmen. Ein Teil der Muskelfasern war zu Inseln isoliert, vakuolisiert. Die Vakuolen waren zum Teil, wegen der Lösung ihres Inhaltes in Alkohol-Xylol, leer (Fettsäuren), zum Teil mit ungefärbten Krystallen (Aminosäuren) angefüllt. Diese Vakuolisierung der Muskeln verstärkte sich gegen das Ende der Untersuchungen, bis gegen den 166. Tag der ganze Muskel in eine vakuolenhaltige Masse von ähnlichem Aussehen wie Fettgewebe umgewandelt war. Bei starker Vergrößerung erkennt man in den vom Perimysium und einer muskulösen Hülle umgebenen Räumen zahlreiche farblose Tyrosinkrystalle. Dieser Vakuolisierungsprozeß der Muskulatur verdient ebenfalls Berücksichtigung in den aufeinanderfolgenden Stadien der Muskelfäulnis.

Kritik der Methode. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß die histologische Methode, welche bei der Diagnose der pathologisch-anatomischen Veränderungen ausgezeichnete Dienste leistet, bei den

Fäulnisveränderungen nur dürftige und engbegrenzte Resultate liefert. Sowohl die Kerne, wie die Gewebsstruktur schwinden sehr rasch und können daher nur in den ersten Wochen verwertet werden. Wichtigere Dienste leistet das Verfahren bei den peripheren Muskeln, da diese ihr histologisches Aussehen längere Zeit beibehalten. Unsere Ergebnisse stimmen mit denen von *Walcher* überein, der ebenfalls feststellte, daß die Muskeln sehr lange der Fäulnis widerstehen. Er erkennt das System histologisch noch nach 4 Monaten, erwähnt jedoch das von uns beschriebene Phänomen der Vakuolisierung nicht.

Scharlachfärbung.

Die Technik ist dieselbe wie bei Hämatoxylin-Eosin.

Lungen: Fett trat verzögert, räumlich erst am 22. Tage in Form von Tröpfchen in den Gefäßen — nach dem Typus der postmortalen Embolie — auf und

erst nach dem 53. Tage fanden wir eine völlige Umwandlung des ganzen Gewebes und eine intensivere Färbung mit Scharlach. Zur Erklärung dieses Vorganges fanden wir außer den embolischen Tröpfchen in den Gefäßen auch ein Eindringen des Fettes von außen.

Die Lunge zeigte einen von dem aller anderen Organe abweichenden Fäulnisgang. Auch in der Abhandlung von *Walcher* wird eine postmortale Steatose nicht erwähnt.

Herz: Hier fanden sich schon von den ersten Schnitten an (beim Hunde 1) äußerst feine, rot gefärbte Tropfen. Diese Tropfen wurden bis zum völligen Verschwinden des Organes immer größer. Beim 2., nach 71 Tagen Fäulnis geöffneten Hunde fanden sich im

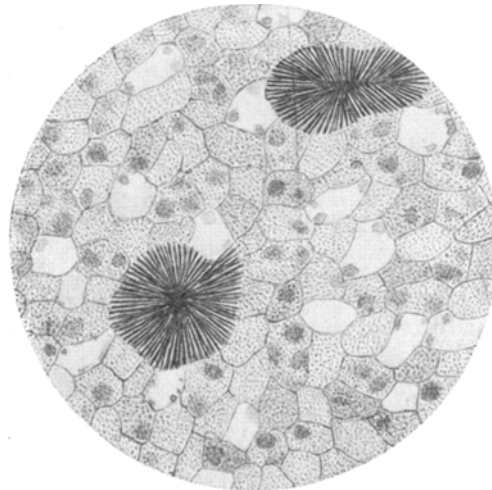


Abb. 1. Peripherer Muskel nach 155 Tagen Fäulnis. Scharlachfärbung. Der Muskel hat das Aussehen von Fettgewebe. In den Vakuolen Aminosäure, stellenweise Haufen von Tyrosin.

Herzen keine scharlachgefärbten Tropfen. Nach 80 Tagen fand sich bei diesem Hunde zwar Fett, jedoch interstitiell in Form von isolierten Massen. Hier kann Fettwanderung konstatiert werden.

Nieren: Sie zeigten reichlich Fett schon in den ersten Schnitten. Bei den Hunden erschienen nach dem 22. Tage auch Krystalle, die sich mit Scharlach nicht färbten.

Leber: Sie zeigte dieselben Befunde wie das vorige Organ. Die Quantität des Fettes ist viel größer; es ist im Anfange rot und nach 28 Tagen gelb gefärbt.

Periphere Muskeln: zeigten erst nach dem 71. Tage Fett in der Muskelfaser selbst. Gleichzeitig erscheinen in den Schnitten auch Krystalle. Das zuerst rot gefärbte Fett nahm später eine gelbliche Färbung an. Vom 105. Tage an war die ganze Schnittfläche des Muskels orange- oder scharlachrot gefärbt. Noch später

fanden wir transformierte rot gefärbte Bündel; andere wieder farblos und außerdem große Mengen von teils gefärbten, teils ungefärbten Krystallen. Vakuolisierung und Fettinfiltration waren hier noch ausgeprägter. Die peripheren Muskeln, welche anfangs in ihrem Interstitium nur wenig Fett aufwiesen, zeigten nach dem 105. Tage viel Fett. Dieses Infiltrationsfett färbte sich noch nach langer Zeit (nach 120 Tagen) leuchtend rot. Nach diesem Datum ließ es sich nicht mehr färben. Nach dem Auftreten der Fettinfiltration erschienen im Muskelparenchym deutliche Veränderungen. Fast zur selben Zeit (105. Tag) sahen wir einzelne Muskelbündel, die eine teils rote, teils gelbe Farbe besaßen, während der übrige Teil ungefärbt war. Die färbbaren Substanzen lagen in der Peripherie der Bündel. Dieses Phänomen wird immer ausgesprochener, der Muskel ist zuerst rot gefärbt, dann orangegelb und läßt sich vom 144. Tage an mit Scharlach nicht mehr färben.

Bis zu diesem Datum erscheinen die großen Cohnheimschen Felder vakuolisiert, voll mit Krystallen von Fett- oder Aminosäuren. Vom 144. Tage ab ist der Schnitt völlig farblos, da der Muskel in eine alveoläre Masse umgewandelt ist, deren Vakuolen Krystalle oder amorphe Stoffe enthält.

Kritik der Methode.

Mit dieser Färbung kann man einen Teil der Fäulnisprozesse, die Fettwanderung und die postmortale Steatose besser sichtbar machen. Fettinfiltration konnten wir in Herz und Muskeln feststellen, in den anderen Organen fehlte sie. In den Lungen fanden wir kleine Tröpfchen — nach Typus der Embolien —, jedoch nur in den großen Gefäßen. In Nieren und Leber fanden wir nur eine Fettumwandlung. Der Muskel jedoch zeigte 3 wichtige Prozesse: Infiltration, Umwandlung und Vakuolisierung. Somit ist die Scharlachfärbung eine der brauchbarsten Methoden, um die während der spät eintretenden Fäulnis der Muskeln auftretenden Prozesse anschaulich zu machen.

Nilblaufärbung.

Dieselben Schnitte, die mit Scharlach gefärbt waren, färbten sich auch mit diesem Farbstoff:

Herz: In den ersten Schnitten färbt sich das subperikardiale Fett metachromatisch rosa, violett und blau. Doch sieht man zahlreiche Fäulnisblasen, in denen das Fett fehlt. In den späteren Schnitten fanden wir keine Substanzen mehr, welche sich mit Nilblau färben. Bei dem 2. Hunde färbte sich das subperikardiale Fett noch nach dem 70. Tage rötlich violett und blieb ein Teil, der jedoch mit Krystallen erfüllt war, farblos.

Lungen: In den ersten Schnitten war das Organ grün gefärbt und blieb so gefärbt fast bis zur völligen Umwandlung. Diese Färbung ging jedoch nach dem 80. Tage in Violett über. Nach diesem Datum erschienen zahlreiche farblose Krystalle.

Nieren: In den ersten beiden Schnitten fanden sich in den Tubuli, vorzugsweise in jenen der Rindensubstanz, violette, rotviolette und blau gefärbte Protoplasmatröpfchen. Von dem 28. Tage an färbte sich das Organ homogen, bald dunkel, bald hellviolett oder blau.

Leber: In den ersten Schnitten finden sich violett oder rotviolett gefärbte Tröpfchen, welche nach dem 28. Tage violett oder dunkelblau wurden. In den

späteren Schnitten zeigte das Organ dunkelblaue Streifen, in welchen auch ungefärbte Inseln vorkamen.

Muskeln: Im M. pectoralis war am 22. Tage das ganze interstitielle Fettgewebe violett oder blau gefärbt. Dieser Muskel zeigte nach dem 39. Tage dasselbe Fett in rötlich-violetter und dunkelvioletter Färbung. Die Muskeln der Extremitäten zeigten nach dem 55. Tage dieselbe Färbung. Diese Muskeln wiesen nach dem 62. Tage eine reichliche interstitielle Fettinfiltration auf, die teils violett, teils ungefärbt war. Der Bauchmuskel zeigte nach dem 71. Tage dunkelblau gefärbtes interstitielles Fett. Beim 2. Hunde bestand nach dem 71. Tage eine starke Infiltration mit interstitiellem, teils blau gefärbtem, teils farblosem Fett. In diesem fanden sich auch farblose Krystalle. Bis zum 105. Tage blieb das ganze interstitielle Fett der peripheren Fuß- und Bauchmuskeln dunkelviolet oder bläulich-braun gefärbt. Dann bekam es seine ursprüngliche Farbe wieder und färbte sich beim M. intercostalis metachromatisch rot. Ebenda fanden sich auch metachromatisch gefärbte einzelne Muskelbündel. Von diesem Datum an und bis zum 117. Tage färbte sich das in den Extremitätenmuskeln noch verbliebene oder auftretende Fett violett oder rötlich violett. Von da ab begann die Fettmasse von sehr zahlreichen Krystallen verdrängt zu werden. Einige dieser Krystalle waren farblos, andere färbten sich metachromatisch, während die große Masse dunkelblau gefärbt blieb. Vom 144. Tage an untersuchten wir nur die Muskeln der Wirbelsäule und konstatierten, daß von dieser Zeit an das Fett fast ganz von Massen farbloser Krystalle ersetzt war. In den letzten Schnitten vom 166. Tage ab war das vakuolierte Muskelsystem von einer krystallinisch-dunkelblau gefärbten Masse ersetzt.

Kritik der Methode.

Dem Nilblau folgt das Verschwinden des Neutralfetts, wie aus den Untersuchungen hervorgeht, sehr rasch. Dieselben Resultate wurden auch von *Mangili* erhalten. Gleichzeitig mit dieser Färbung kann man auch wahrnehmen, daß ein Teil des postmortalen Fettinfiltrates unter der Form neutralen Fettes eindringt, während der größte Teil von einem Gemenge von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren gebildet wird (dunkelblau). Somit kann auch diese Färbung ebenso wie die mit Hämatoxylin-Eosin nur in den ersten Tagen der Fäulnis angewendet werden.

Die Fettsäurefärbung nach Fischler.

Die Schnitte, welche bei dem vorhergehenden Verfahren benutzt worden waren, gaben auch das Material für die Färbung auf Fettsäuren nach *Fischler*.

Lungen: Sie zeigten kein einziges Mal Krystalle, die sich mit Kupferacetat oder mit alkoholischem Hämatoxylin dunkelblau färben ließen. Da wir dieses Organ bis zu seinem völligen Verschwinden (über 80 Tage) beobachteten, sind wir der Meinung, daß der Verseifungsprozeß das Lungengewebe nicht angreift.

Herz: Bei diesem Organe fanden wir nach dem 28. Tage an der Peripherie einige Streifen, welche sich mit Kupferacetat grün färbten. Kein einziges Mal jedoch konnten wir in diesem Organe Fettsäuren auffinden, welche die charakteristische Färbung, sei es nach *Bürger* oder *Fischler*, gezeigt hätten.

Leber: Dieses Organ zeigte ebenfalls keine positive Reaktion nach *Fischler*. Abweichend jedoch von anderen Organen erschienen nach dem 28. Tage mit

Kupferacetat färbbare Krystalle. Am 39. Tage waren diese Krystalle sehr zahlreich und erschienen in Form von Klumpen, die im Zentrum grün und an der Peripherie rot bis scharlachrot gefärbt waren. Diese Schnitte, in ein Gemisch von Alkohol und Äther eingelegt, zeigten keine cuprophilen Krystalle mehr, sondern nur farblose Tyrosinkrystalle und rote bis ziegelrote Haufen von Leucin.

Dieses Gemenge von Leucin, Tyrosin und Fettsäure nahm stetig zu, blieb bis zum Schlusse bestehen und war auch in den letzten Schnitten deutlich sichtbar.

Nieren: Auch in diesem Organ erschienen zur selben Zeit mit Kupferacetat gefärbte Krystalle. Diese waren jedoch nur vorübergehend vorhanden und verschwanden nach dem 39. Tage; nach diesem Datum fanden sich nur mehr Tyrosin und schokoladenbraune Leucinkrystalle.

Muskel: Beim 1. Hunde machte diese Methode bis zum letzten Tage nur das Infiltrationsfett sichtbar, welches sich entweder schokoladenbraun oder grünfärbte. Beim 2. Hunde zeigte der Muskel nach dem 71. Tage Inseln von teils farblosen, teils braunen Krystallen. Vom 92. Tage an war die Methode Fischler rein positiv, charakterisiert durch das Erscheinen von kleinen, dunkelbraun gefärbten Krystallen. Von diesem Tage an war Fischler immer allgemeiner, indem sich die Fettsäuren bald blaubraun, bald dunkelblau färbten. Wenn die Schnitte in eine Mischung von Alkohol und Äther eingelegt wurden, so verschwanden alle blau oder grün gefärbten Krystalle und blieben nur die farblosen Tyrosin- oder schokoladenbraunen Leucinbildungen übrig. Der Vakuolisierungsprozeß war vom 148. Tage an deutlich und verstärkte sich ständig, indem er einen immer größeren Teil des Muskelfeldes einnahm. Vom

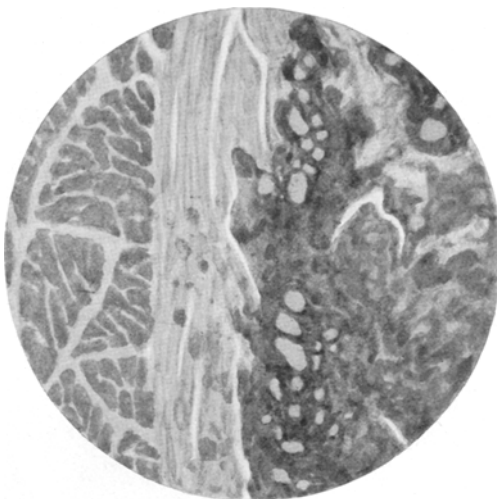


Abb. 2. Peripherer Muskel nach 148 Tagen Fäulnis. Färbung nach Fischler auf Fettsäuren. Verseifung des ursprünglich vorhandenen Fettes. Die Fettsäureinseln zeigen nur eine Affinität für Kupferacetat.

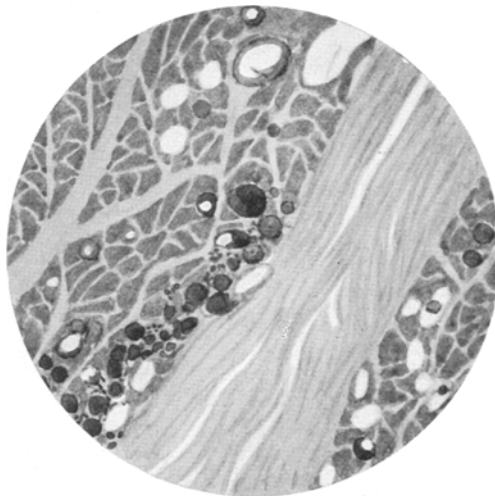


Abb. 3. Peripherer Muskel nach 105 Tagen Fäulnis. Färbung nach Fischler auf Fettsäuren. Teilweise Umwandlung des Muskelgewebes in Fettsäuren (vorschriftsmäßig gelungene Färbung).

155. Tage an waren diese Vakuolen nur noch von farblosen Tyrosinkristallen angefüllt. Ein am 155. Tage entnommenes Muskelpreparat bot nach Einlegen in Alkoholäther denselben Anblick dar wie die mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitte und machte den Eindruck alveolären Gewebes. In diesen Alveolen fanden sich farblose Krystalle.

Um diesen Vorgang sowie die Entwicklung des Erscheinens der Fettsäuren und der Produkte der Eiweißhydrolyse besser klarzulegen, geben wir hier folgende Tabelle (s. S. 393) wieder.

Kritik der Methode.

Die Fettsäurefärbemethode nach *Fischler* ist allein nicht genügend, sondern muß durch jene zum Nachweis von Seifen ergänzt werden. Trotzdem scheint uns der Vergleich unserer Resultate mit den durch

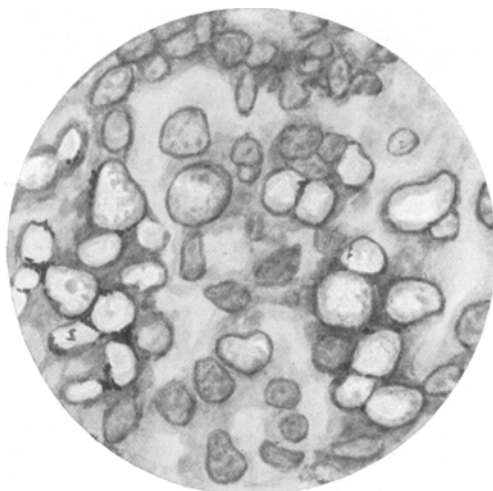


Abb. 4. Peripherer Muskel nach 155 Tagen Fäulnis. Färbung nach *Fischler* auf Fettsäuren. Fettsäure aus der Desaminierung des Muskelgewebes. Die zentralen Fettsäureinseln von Leucinkristallen umgeben.

andere Methoden erreichten ihre Überlegenheit über alle zuvor herangezogenen Verfahren darzutun. Denn mit dieser Methode konnten wir das Erscheinen der Fettsäuren erkennen, welche sich anfangs nur mit Kupferacetat färben lassen, um dann später die klassische Reaktion nach *Fischler* zu zeigen. Die Fettsäuren konnten anfangs im interstitiellen Fett, später in den Produkten der Hydrolyse und Desaminierung der Eiweißabbaustoffe nachgewiesen werden.

Durch diese Methode konnten wir außerdem nach

der Behandlung der Präparate mit Alkoholäther den Entstehungsort der Fettinfiltration feststellen. Die histologischen Muskelpreparate zeigen, daß die Fettsäuren aus Proteinsubstanzen, und zwar aus den Aminosäuren hervorgehen. Die kompakten Haufen der Aminosäuren enthalten in ihren Zentren Fettsäuren, welche dann allmählich die ursprünglichen Elemente des Organs ersetzen und schließlich große Teile davon einnehmen. Wenn diese Methode zum Nachweis der Fettsäuren mit neuen histologisch-chemischen Verfahren zur Darstellung der Eiweißhydrolyse kombiniert würde, wäre die gerichtliche Medizin im Besitze der besten Methode, um *in den gegebenen Grenzen* die sich folgenden Stufen der Fäulnis festzustellen.

Außer den bis jetzt erwähnten Methoden haben wir auch das Verfahren nach *Weigert*, welches auf dem Verschwinden der elastischen Fasern beruht, versucht. Diese Methode ergab uns jedoch keine nennenswerten Resultate. Ferner untersuchten wir auf Cholesterin nach der Schulzschens Methode: in keinem einzigen Falle fanden wir Cholesterinkrystalle.

Allgemeine Betrachtungen.

Die vorliegenden Untersuchungen brachten außer einer Auswahl der für das Studium der Fäulnis in Betracht kommenden Methoden auch einige Beiträge zum viel erörterten Probleme der Leichenwachsbildung.

Die Verwandlung von Eiweiß in Fett beschäftigt auch heute noch viele Forscher und läßt sie 2 Ansichten verfechten: die einen sind Anhänger der Desaminierungstheorie, die anderen geben eine Bildung des Leichenwachses nur aus dem vorrätigen Fette zu.

Zu den Autoren, welche neuerdings diese Ansicht bekämpfen, gehören *Straßmann*, *Fantl*, *Tschirsch* und *Gfeller*. Sie sind der Meinung, daß die Eiweißstoffe an der Verfettung nicht beteiligt sind. Die 2 zuletzt genannten Autoren behaupten, daß die Leichenwachsbildung nichts anderes sei, als ein Verwässerungsprozeß der ungesättigten Fettsäuren, welche durch Selbstumwandlung in gesättigte Fettsäuren übergehen. *Walcher* hatte während seiner Untersuchung keine Gelegenheit diese Umwandlung wahrzunehmen und gelangt somit bezüglich dieses Vorgangs zu keinem Schlusse. In vielen seiner Präparate fand er die Organe in Steatose (das Herz nach 40tägiger Erdprobe).

Unter den Autoren, welche neuerdings diese postmortale Steatose der Muskeln behaupten, sind: *Bianchini*, *Barral* und *Mangini*. *Bianchini* bewies diesen Vorgang experimentell durch Eingraben von Muskeln, *Barral* anlässlich einer Exhumierung und *Mangini* durch experimentelle Untersuchungen.

Nach unseren Untersuchungen zeigt der Prozeß der postmortalen Steatose 2 verschiedene Phänome:

1. Verfettung und Verseifung;
2. Hydrolyse-Autolyse und Desaminierung der Eiweißsubstanzen.

Diese beiden Phänomene treten im peripheren Muskel fast gleichzeitig auf.

Der 1. Prozeß der Infiltration geht dann in Verseifung über und währt kürzere Zeit als der 2. Wir haben festgestellt, daß die Fettsäuren im Infiltrationsfette frühzeitig erschienen. Wenn die Fettsäuren in den Klumpen von Aminosäuren auftraten, verschwanden allmählich die bei der Verseifung gebildeten Fettsäuren, bis wir in den letzten Präparaten nur solche Fettsäuren vorfanden, die der Desaminierung des Muskels entstammten.

In unseren Präparaten sind diese beiden Prozesse deutlich voneinander geschieden und recht anschaulich. Das Vorhandensein beider Prozesse ergab sich sowohl aus der Färbung als aus chemischen Untersuchungen. Die mit Kupferacetat grün (nach *Bürger*) oder blau mit Hämatoxylin-Weigert (nach *Fischler*) gefärbten Fettsäuren lösten sich in einem Gemisch von Alkohol-Äther auf. Sie waren an Krystalle gebunden, die aus der Hydrolyse des Eiweißes (Aminosäuren) hervorgegangen waren. Dies ist ein neues Argument für das tatsächliche Vorhandensein der Desaminierung. Auch *Barral* fand in den Organen freie Fette, welche in Äther und anderen albuminösen Materien lösbar waren.

In den letzten Präparaten, welche das Aussehen von Fettgeweben haben, spricht die Anwesenheit von Tyrosin enthaltenden Krystallen ebenfalls für Desaminierung. Hier kann keinesfalls Fettgewebe vorliegen, denn dieses hätte sich völlig gelöst, die Vakuolen wären frei von den in Alkoholäther unlöslichen Krystallen und die Präparate hätten sich mit Scharlach gefärbt.

Um vollständig überzeugt zu sein, daß wir an Stelle des Muskels Fettsäuren gefunden hatten, wendete ich mich an das Institut für organische Chemie, welches so liebenswürdig war, folgende Analysen anzustellen¹:

1 g eines früheren Muskels (zwischen dem 20. und 50. Tage der Fäulnis entnommen) wurde längere Zeit mit CCl_4 behandelt, um die Fette restlos zu entfernen. Hierauf wurde es 1 Stunde lang in 20 ccm einer 10proz. Na_2CO_3 -Lösung gekocht. Die Sodalösung blieb fast völlig klar. Durch Filtrieren und nachfolgende Behandlung mit einer konzentrierten NaCl -Lösung oder mit Säuren wurde kein Niederschlag erhalten.

Dieselbe Muskelmenge, welche eine längere Fäulnis (80 oder über 80 Tage) durchgemacht hatte, wurde nach Behandlung in Chloroform mit Na_2CO_3 (von gleicher Konzentration) gekocht. Die kochende Flüssigkeit schäumte stark, wie es für Seifen charakteristisch ist. Das Filtrat hatte einen für Seifen sehr bezeichnenden Geruch. Die erkaltete Lösung bildete Seifenflocken, welche sich niederschlugen. Der Niederschlag erfolgt schneller und reichlicher, wenn die klassische Aussalzung verwendet wird, d. h. wenn das Filtrat mit einer konzentrierten Kochsalzlösung behandelt wird.

Da die Proben zu klein waren, konnte eine genaue Analyse nicht vorgenommen werden.

Von nun an ist die Umwandlung des Muskels in Fettsäuren und ferner die Bildung von Seifen und von Leichenwachs eine sichere, demonstrierbare Tatsache.

Die Fettinfiltration, die vorherbestehende Verseifung der Fette, die postmortale Steatose, die Hydrolyse und Desaminierung der Eiweißstoffe, sind die wichtigsten Phänomene der Fäulnis, welche je nach dem Organ eine verschiedene Entwicklung zeigen.

¹ Wir danken Herrn Prof. S. Tănăsescu für die angestellten Untersuchungen.

Eine andere wichtige Tatsache, welche wir noch nicht verzeichnet fanden, betrifft die Entstehung dieser Phänomene in verschiedenen Organen.

In jedem einzelnen Organ ist das Auftreten dieser Prozesse verschieden. Die Fettinfiltration fehlt in der Leber, in den Nieren und Lungen. Wir haben nicht in einem einzigen Präparate diesen Prozeß vorgefunden. In den Lungen fanden wir in den Gefäßen kleine Tropfen von Embolusform. Im Myocard und dem peripheren Muskel existiert eine Infiltration; sie ist früher im Myokard und später im peripheren Muskel nachweisbar. Im gestreiften Muskel variierte die Infiltration je nach der Gegend: sie erscheint in den Interkostal- und Pektoral-muskeln früher, in denen der Gliedmaßen und des Rückens später.

Die postmortale Steatose ist in Leber und Nieren sehr frühzeitig, in Herz und Muskeln spät vorhanden. Die Steatose wurde mit Scharlachfärbung nachgewiesen. Scharlach färbt, den letzten Untersuchungen zufolge, mit Ausnahme von 2 Fettsäuren (*Kaufmann* und *Lehmann*), sämtliche Fettsäuren. Die gefärbten Organe zeigen größere oder kleinere Tropfen oder sind ganz gefärbt. In den Lungen erschienen die Tropfen kein einziges Mal frühzeitig, sondern erst äußerst spät; nach dem 90. bis 100. Tage färbte sich das ganze Organ dunkelrot. Die Verseifung der Infiltrationsfette konnte außer im Herzen und in Muskeln in keinem anderen Organ nachgewiesen werden. In den beiden Organen erschienen die Fettsäuren nach verschieden langer Zeit, nämlich in den Muskeln nach dem 50., im Myokard sogar erst nach dem 80. Tage.

Auch die Hydrolyse und Desaminierung zeigten Variationen in den Organen.

Aus der Hydrolyse oder Autolyse der Eiweißsubstanzen nehmen, wie wir wissen, die verschiedensten Aminosäuren ihren Ursprung. Die am meisten bekannten und des öftern untersuchten sind: Tyrosin (Oxyphenylamino-propionsäure) und Leucin (Amino-iso-butylelessigsäure). Diese beiden Aminosäuren wurden an ihren Krystallen erkannt, welche sich in den Schnittpräparaten bilden. *Walcher* erwähnt in seinen Arbeiten sehr oft diese Krystalle, ohne jedoch zu sagen, was er bezüglich ihres Zustandekommens glaubt. So fand er z. B. einmal in den Muskeln nach 4monatigem Vergraben viel Tyrosin- und Leucinkrystalle. In den Nieren können die Krystalle noch nach dem 30. Tage nachgewiesen werden. Hingegen fanden sich in der Leber in einem Falle schon am 5. Tage nach der Exhumierung Leucin und Tyrosin. Was die Lunge betrifft, gab *Walchers* Arbeit nur spärlichen Aufschluß über den Vorgang der Hydrolyse. Das Herz zeigte in einem Falle von *Walcher* nach 30 Tagen Tyrosin und Leucin.

Bei unseren Versuchen variierte das Auftreten der Aminosäuren ebenfalls nach dem Organ. Leucin erschien früher, Tyrosin später.

Beide traten sehr frühzeitig in Leber, Herz, Muskeln, später in den Nieren (nach dem 50. Tage) und äußerst spät in den Lungen auf. Leucin wurde in der Lunge niemals vorgefunden.

Die Desaminierung dieser Produkte der Hydrolyse erfolgte in den verschiedenen Organen allmählich; so erschienen die Fettsäuren im Herzen nach dem 70. Tage, in der Leber schon nach dem 30. Tage; während sie in Lunge und Niere in unseren Schnittpräparaten nicht aufzufinden waren.

In *Walchers* Untersuchungen wird Anwesenheit von Säuren oder von Margarine nur in dem Falle einer Exhumierung, nach 3 Jahren angeführt. Bei der Leber dieser Leiche werden Fettsäuren nicht erwähnt. Im Herzen einer nach dem 60. Tage aus dem Wasser gezogenen Leiche fand *Walcher* Fettsäuren im sub-epikardialen Fette.

Der Muskel wies bei unseren Untersuchungen charakteristische Fettsäuren auf, welche aus der Desaminierung nach dem 92. Tage hervorgegangen waren. Sie ließen sich mit Kupferacetat oder Hämatoxylin färben; ihre Menge vergrößerte sich gegen die letzten Tage der Exhumierung hin. Auch *Walcher* fand in einem nach $1\frac{1}{4}$ Jahren exhumierten Kadaver Fettsäurekrystalle vor.

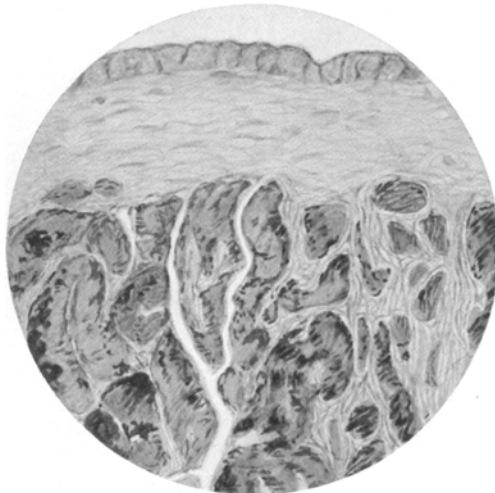


Abb. 5. Peripherer Muskel nach 184 Tagen Fäulnis. Färbung nach Fischler auf Fettsäuren. Völlige Umwandlung des Muskelgewebes in Fettsäure (partielle Affinität nur für Kupferacetat).

Daß wir es mit 2 Arten von Fettsäuren zu tun haben, beweisen uns auch die histologischen Schnittpräparate. Auch in unserer ersten, von *Kernbach*, *Fisi* und *Berariu* publizierten Arbeit färbten sich die Fetttropfen einheitlich, sei es mit Kupferacetat, sei es mit alkoholischem Hämatoxylin.

In den Muskelpräparaten waren die Haufen der Fettsäuren von Aminosäuren (Albuminoiden) umgeben, indem sie das Zentrum nur grün oder blau färbten, die Peripherie jedoch Haufen von Krystallen (Tyrosin) zeigte, und sich schokoladenbraun färbte. Diese Bildungen erscheinen auch in der Leber, ganz besonders reichlich jedoch in den Muskeln. Sowohl das morphologische Aussehen als das färberische Verhalten sprechen für das Vorhandensein von Fettsäuren, welche teils aus dem Fettgewebe, teils aus den Eiweißsubstanzen stammen.

Sowohl unsere als *Walchers* Untersuchungen zeigen, daß die Fettsäuren in den verschiedenen Organen allmählich erscheinen und daß nicht alle Organe diesen Desaminierungsprozeß durchmachen. Die praktische Wichtigkeit dieser Tatsache macht den Wert der histochemischen Methode beim Studium des Todesdatums immer deutlicher.

Außer der praktischen Bedeutung haben unsere Untersuchungen, wie wir glauben, auch wissenschaftlichen Wert für die Erkennung chemischen Aufbaus der Eiweißstoffe und das Verständnis der Leichenwachsbildung.

Eiweißhydrolyse und Desaminierung sind heute gut bekannt. Es gibt aber noch Forscher, teils Chemiker, teils Gerichtsärzte, welche den Übergang des Eiweißes in Fett noch immer bezweifeln.

Unsere Präparate bringen einen neuen Beweis zu den bisher bekannten Tatsachen.

In der Pathologie ist das Problem der Fettinfiltration oder fettigen Degeneration noch heute umstritten. Unsere Untersuchungen klären es zwar nicht völlig auf, bringen jedoch ein neues Beweismittel für die Möglichkeit der fettigen Entartung. Die Leichenwachsbildung, deren Ursprung definitiv



Abb. 6. Derselbe Schnitt, Hämatoxylinfärbung. Vakuolisierung des Muskelgewebes. Die Höhlungen angefüllt mit Aminosäurekrystallen.

festgestellt schien, ist in letzter Zeit von vielen obengenannten Autoren erneut diskutiert worden, weil sie nicht zugeben wollen, daß die Muskeln daran teilnehmen. Wir glauben, daß unsere Untersuchungen auch zu dieser Frage einen ernst zu nehmenden Beitrag in dem Sinne liefern, daß der Muskel ebenso wie das Infiltrationsfett an der Bildung des Fettwachses beteiligt ist. Das sind logische Schlüsse, zu welchen übrigens in letzter Zeit auch italienische Autoren (wie *Bianchini* und *Mangili*) gelangten.

Unsere Versuche wurden nicht bis zur endgültigen Verflüssigung der Weichteile fortgesetzt. Sie hätten auch noch auf andere Muskelgruppen ausgedehnt werden können, welche weniger rasch in Verwesung gerieten.

Die histochemischen Untersuchungen ergeben jedoch noch viele

Vorteile beim Studium der Fäulnis. Frühere Untersuchungen von *Lacassagne* über das Verschwinden des Glykogens und der Glykose bedürfen noch weiterer Untersuchungen. Die biochemische Konstitution eines jeden Organs zeigt auch ihre eigene Individualität. Dem verschiedenartigen Verlauf der Fäulnis, der Autolyse, der Hydrolyse, der Verseifung und Mumifizierung beim Abbau der Eiweißsubstanzen entspricht insbesondere histologisches Verhalten.

Die Eiweißfäulnis ist in vitro beim Muskel, beim Serumalbumin usw. bekannt. Die primären oder sekundären Abbauprodukte, Aminosäuren und ihre Salze, haben eigene Reaktionen, durch welche sie chemisch identifiziert werden können. Es wäre also notwendig, diese Reaktionen in den histologischen Schnitten anzuwenden. Wir verwendeten die spezifischen Reagentien des Tyrosins (nach *Millon*, *Pyrria*, *Dénigès*) und des Leucins (Kupfersulfat), es gelang uns aber nicht charakteristische Reaktionen zu erzielen. Man müßte also versuchen, diese Reagensglasproben für Reaktionen im Schnittpräparat anzupassen. Hier zeigen sich die meisten Vorteile der histo-chemischen Fäulnisuntersuchung, sie muß systematisch unter Berücksichtigung der wichtigsten Faktoren der Fäulnis — Medium und Jahreszeit — auf alle Organe von den peripheren Muskeln bis zum Knochenmarke, ausgedehnt werden. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen haben besonderes Interesse, teils für die gerichtliche Medizin und für die Praxis, teils für die allgemeine Pathologie.

Praktisch können wir behaupten:

1. Die einfache histologische und bakteriologische Methode können zur Ermittlung der Todeszeit nicht verwendet werden, außer in den ersten Tagen der Fäulnis.

2. Die histo-chemische Methode ist allen anderen überlegen, da sie die einzelnen Fäulnisstadien in den verschiedenen Organen erkennen läßt. Sie kann die postmortale Fettwanderung, die postmortale Steatose, die Verseifung der präexistenten Fette, die Hydrolyse oder Autolyse der Eiweißstoffe sowie auch die Desaminierung der Eiweißabbauprodukte augenscheinlich machen.

3. Die aus der Verseifung resultierenden Fettsäuren erscheinen bei der Fäulnis in der Erde vor jenen, die ihren Ursprung aus Eiweiß nehmen.

4. In der Erde variiert der Zerfall des Kadavers nach dem Organ. Theoretisch zeigen unsere Versuche:

5. Den Ursprung der Fettsäuren aus Produkten der Eiweißhydrolyse, eine Tatsache, welche das Vorhandensein der Desaminierung und die Möglichkeit des Überganges von Eiweiß in Fette beweist.

6. Bei der Bildung des Leichenwachses spielen die von Eiweißstoffen stammenden Fettsäuren (in den peripheren Muskeln) eine ausschlaggebende Rolle.

Literaturverzeichnis.

Barral, Formation rapide de gras de cadavre dans la putréfaction cadavérique. Ann. de méd. lég. **1927**, Nr 10. — *Bianchini*, Il grasso cadaverico e la sua origine. Biochimica e Ter. sper. **1925**, 1 u. 10. — *Bürger*, zit. nach *O. Leers*, Gerichtsärztliche Untersuchungen. Springer 1913. — *Kauffmann* und *Lehmann*, Sind die in der histologischen Technik gebräuchlichen Fettdifferenzierungsmethoden spezifisch? Virchows Arch. **261**, H. 2 (1926). — *Kernbach*, *Fisi* und *Berariu*, Recherches histochimiques sur les substances graisseuses pendant la putréfaction. Ann. de méd. lég. **1927**, Nr 10. — *Lacassagne*, Précis de méd. lég. Paris: Masson 1921. — *Mangili*, Contributo allo istochimica della putrefazione ex. Arch. di Antrop. crimin. **6** (1928). — *Romanese* e *Tore*, Contributo allo studio dei fenomeni cadaverici. Ricerca ed isolamento dei germi anaerobi nei primi periodi dopo la morte. Giorn. Batter. **1927**. Ref. in Arch. di Antrop. crimin. **2** (1927). — *Strassmann* und *Fantl*, Untersuchungen an einer Fettwachsleiche. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **6** (1925). — *Tschirch* und *Gfeller*, Über das Leichenwachs. Schweiz. Apothekenzeitung **1925**, Nr 20. — *Walcher*, Studien über die Leichenfäulnis mit besonderer Berücksichtigung der Histologie derselben. Virchows Arch. **268** (1928). (Angegliedert findet sich hier ein vollständiges Literaturverzeichnis über Fäulnis.)
