

(Aus dem Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin der Universität Bonn.
Direktor: Prof. Dr. Pietrusky.)

Zur Anwendung der Methode des Gefrierschneidens unfixierter Gewebe an forensischem Material¹.

Von
Priv.-Doz. Dr. G. Schrader.

Mit 1 Textabbildung.

In letzter Zeit erfuhr die histologische Untersuchungstechnik eine wesentliche Bereicherung und Vervollkommnung durch die von *Schultz-Brauns* ausgearbeitete Methodik des Gefrierschneidens unfixierter Gewebe. Die neueste Auflage von *Schmorls* Histologischer Technik, die von *Geipel* herausgegeben ist, berichtet merkwürdigerweise darüber noch nichts Näheres, während *Romeis* es in seinem Taschenbuch mehrfach erwähnt und auch näher beschreibt. Es hat aber dieses Untersuchungsverfahren schon Eingang in verschiedene histologische Laboratorien gefunden, da es eine Reihe erheblicher praktischer Vorteile besitzt. Diese bestehen einmal in größter Schnelligkeit der Gewinnung gefärbter Präparate, die im Vergleich mit den bisherigen Schnellmethoden bedeutend bessere Bilder geben. Ferner können aufeinanderfolgende Schnitte aus dem gleichen Gewebsstück den verschiedensten Färbungen, insbesondere auch histochemischen Reaktionen unterworfen werden, zu denen sonst verschiedenartige Einbettungs- bzw. Schneideverfahren und vor allem verschiedene Gewebsstücke erforderlich sind. Und schließlich lassen sich gerade die sonst durch Fixierung und Einbettung spröde und deshalb schwer schneidbar werdenden Gewebe — so in erster Linie Haut — in unfixiertem Zustande bedeutend besser schneiden und vor allem dabei auch genügend dünne Schnitte (von 10 μ Dicke) gewinnen, die für mikrophotographische Aufnahmen sehr günstige Objekte darstellen².

Längere Beschäftigung mit dieser Methode bei tierexperimentellen Arbeiten führte mich zu der *Frage*, ob nicht auch forensisches Leichenmaterial mit seinen mannigfachen Veränderungen — sei es durch postmortale, sei es durch andere Einflüsse — in unfixiertem Zustande durch das *Schultz-Braunssche* Gefrierschneideverfahren sich vorteilhafter verarbeiten lasse. Theoretische Erwägungen schienen zunächst gegen eine solche Annahme zu sprechen.

Das *Prinzip dieses Verfahrens* beruht nämlich darauf, daß die Eiweißkörper der Zellen und Gewebsflüssigkeiten in den unfixierten Schnitten ihre Klebwirkung

¹ Herrn Prof. Dr. Lochte zu seinem 70. Geburtstag gewidmet.

² Siehe die Abbildungen in meiner Arbeit in Veröff. Gewerbe- u. Konstit.path. 1932, H. 33. Jena: Fischer.

behalten, die nur vorübergehend durch Erhaltung des gefrorenen Zustandes bis zur Übernahme der Schnitte auf die Objektträger aufgehoben wird, dann aber mit ihrem Auftauen zur Wirkung kommt und ein inniges Haften auf den Objektträgern gewährleistet. Die durch das *eigene* Eiweiß aufgeklebten Schnitte lassen sich sodann in der verschiedensten Weise weiter verarbeiten, wobei die Vorzüge der Paraffin- und üblichen Gefriermethode gleichsam vereinigt werden. Auf die Technik, die einige Übung verlangt, kann hier nicht weiter eingegangen werden. Es sei dazu auf die Arbeiten von *Schultz-Brauns* verwiesen. Möglichst frisches bzw. im Kühlschrank frisch gehaltenes Material wird verlangt.

Bei diesen Voraussetzungen könnte man zunächst geneigt sein, sich von einer Anwendung des Frischschneidens an forensischem Material wenig Erfolg zu versprechen, da dieses häufig weitgehenden Veränderungen unterworfen ist, die gerade die Eiweißkörper der Zellen- und Gewebsflüssigkeiten betreffen. In Anbetracht der erheblichen Vorteile, die das neue Verfahren mit sich bringt, schien mir aber seine Ausnutzung für forensische Untersuchungen erwünscht. Ich stellte mir deshalb die Aufgabe, an verschiedenartigem Material seine Verwertbarkeit für die gerichtlich-medizinische Praxis zu prüfen. Die *Ergebnisse*, die an laufendem Untersuchungsmaterial gewonnen und zum Teil noch experimentell erweitert wurden, sollen hier mitgeteilt werden.

Was zunächst die Erfahrungen an Leichenmaterial anlangt, das noch nicht erheblichen postmortalen Veränderungen unterlag, so bestätigten meine Untersuchungen die von *Schultz-Brauns* mitgeteilten günstigen Ergebnisse. Nach Aneignung der erforderlichen Technik ergab die neue Methode sehr gute histologische Präparate, die in kürzester Zeit (zum Teil noch während der Sektion) fertig waren und abgesehen von der Diagnosestellung oft auch eine Entscheidung gerade bezüglich der weiteren Verarbeitung oder Aufbewahrung des Materials ermöglichten. Man muß sich allerdings in die manchmal etwas ungewöhnlichen histologischen Bilder erst einarbeiten, die bisweilen infolge Fortfallens der sonst durch die üblichen Fixierungsmittel eintretenden Schrumpfungen und Erhaltenbleibens der eiweißhaltigen Gewebsflüssigkeiten zustande kommen.

Nach diesen Erfahrungen an gewissermaßen „normalem“ histologischen Material richtete ich das Hauptaugenmerk meiner Untersuchungen einmal auf mehr oder weniger durch Fäulnis veränderte Organgewebe, sodann auf fremdkörperhaltiges Material, sowie vor allem auf die Histologie der Haut bei verschiedenartigen Einwirkungen, wie sie die forensische Begutachtungspraxis mit sich bringt.

Das *Frischschneiden faulenden Gewebes* bot — das dürfte das wesentlichste Ergebnis an der erstgenannten Untersuchungsgruppe sein — im Prinzip keine besonderen technischen Schwierigkeiten, die etwa gegen eine Anwendung der *Schultz-Brauns*schen Methode sprechen könnten. Die inneren Organe einer z. B. nach 3 Wochen in fortgeschrittenem Fäulniszustand exhumierten Leiche, desgleichen Gewebe bei experimenteller Fäulnis ließen sich bis zu einem gewissen Zersetungsgrade ohne weiteres verarbeiten, wobei sogar Lunge mit sog. Fäulnisödem oft besser aufklebende Schnitte lieferte als „normale“ Lunge.

Man muß aus diesen Ergebnissen den Schluß ziehen, daß die Klebewirkung des Gewebseiweißes durch die Fäulnis an sich nicht sofort aufgehoben oder wesentlich beeinflußt wird, sondern die dabei austretenden Eiweißkörper in mancher Beziehung den Frischschneideprozeß erleichtern. Selbstverständlich hat für die Praxis der Laboratoriumsuntersuchung dies nur einen bedingten Wert. Wesentlich günstigere histologische Bilder faulender Gewebe ließen sich gegenüber den bisherigen Methoden auch durch dieses Verfahren nicht erzielen, was aus Paralleluntersuchungen hervorging, die zu Vergleichszwecken angestellt wurden. Einzig der Fortfall von Formalinniederschlägen, der oft an postmortal verändertem Gewebe besonders störend in Erscheinung tritt, wäre als Gewinn zu buchen.

Die 2. Untersuchungsgruppe, nämlich *fremdkörperhaltiges Gewebe-material*, betraf einmal Schußkanaluntersuchungen, zum anderen verschmutzte Wunden nach stumpfer Gewalt und schließlich Lungen Neugeborener mit Aspiration von Fruchtwasser, Meconium oder fremdkörperhaltiger Ertrinkungsflüssigkeit. Bei den Schußkanaluntersuchungen erwies sich die Methode des Frischschneidens als wertvolle Bereicherung unserer Untersuchungsverfahren. Da durch das Blutserum und Gewebseiweiß die mitgerissenen feinsten Fremdkörper, wie Pulverteilchen, Stofffasern u. ä. auf dem Objektträger in ihrer natürlichen Lagerung in der Schußkanalwand fest angeklebt werden, ließ sich mittels dieses Verfahrens auf Flachschnitten (die sonst an eingebettetem Hautmaterial kaum durchführbar sind), ihre Verteilung in den verschiedenen Abschnitten des Einschußgebietes auf Stufenschnitten bequem verfolgen (nebenbei sei hervorgehoben, daß auch Serienschnitte bei genügender Übung mit dieser Methodik zu erzielen sind). Daß keine zeitraubende Einbettungsprozedur erforderlich ist, weiter sich hierbei neben den verschiedensten Färbungen chemische Reaktionen vornehmen lassen, sei nochmals als wesentlicher Vorteil hervorgehoben. Schließlich bleibt das restliche Material, das auf dem Gefriertisch keine störenden Veränderungen erfahren hat, noch ohne weiteres für spektrographische Untersuchungen (*Buhtz, Gerlach*) verwertbar. Das Gleiche gilt auch für die entsprechenden Untersuchungen verschmutzter Wunden nach stumpfer Gewalt. Bei der histologischen Untersuchung von Lungen Neugeborener mit Fremdkörperaspiration bestätigten meine Studien gleichfalls die wesentlichen Vorteile, die in dem *Schultz-Braunsschen* Gefrierschneideverfahren liegen. Ein Ausfall oder eine Verlagerung von Fremdkörpern bzw. Gewebelementen aus den Alveolen beim Einrollen der Schnitte und anschließendem Ausbreiten auf dem unterkühlten Messer zur Aufnahme auf den Objektträger trat nicht ein, wie zahlreiche Vergleichsuntersuchungen bewiesen. Die Möglichkeit, am gleichen Gewebsblock Fett- und andere Färbungen vornehmen zu

können, erwies sich gerade für die Histologie der Lungen Neugeborener als ein ganz wesentlicher Vorteil¹.

Für die *Histologie der Haut* erwies sich bei meinen Untersuchungen an forensischem Material (ergänzt durch experimentelle Studien) die *Schultz-Braunssche Methode* als ganz besonders wertvoll. Gerade die gerichtlich-medizinische Praxis verlangt häufig Begutachtungen von Hautveränderungen (z. B. bei elektrischen Verletzungen, Verbrennungen, Verbrühungen, ferner bei sonstigen Verletzungen im Hinblick auf ihre vitale oder postmortale Entstehung). Da solche Untersuchungen bei Anwendung der bisherigen histologischen Methoden immer wieder technische Schwierigkeiten wegen der schlechten Schneidbarkeit des Hautmaterials ergaben und vor allem auch sich als zeitraubend (infolge der erforderlichen und besonders sorgfältig auszuführenden Einbettungsart) erwiesen, so erschien es mir sehr erwünscht, das Frischschneiden an dem oben genannten verschiedenartigen Hautmaterial auszuprobieren. Ich fand dabei, daß sich mit dieser Methode von *elektrischen Strommarken* ganz hervorragend gute Bilder erzielen lassen. In kürzester Zeit liegen die fertigen Präparate vor. Es können, wie schon betont, bei einiger Übung Stufen- und Serienschnitte gewonnen werden. Vor allem die Möglichkeit, histochemische Reaktionen und verschiedenartige Färbungen an aufeinanderfolgenden Schnitten *ein und desselben* Gewebsblockes vornehmen zu können, ist bei dem oft sehr geringen Material ein ganz besonders hoch zu bewertender Vorteil. Das schließlich auf dem Gefriertisch noch zurückbleibende Gewebsstückchen steht — da durch keinerlei Einbettungsprozeduren beeinflußt — noch für spektrographische Untersuchungen zur Verfügung.

Ähnlich lagen die Untersuchungsergebnisse an *Verbrennungs- und Verbrühungsmaterial*. Bei erstgenannten Schädigungen könnte man zunächst aus theoretischen Erwägungen heraus annehmen, daß durch die Hitzeeinwirkung die Eiweißkörper der Haut koaguliert und damit ihrer Klebewirkung beraubt seien. Experimentelle Studien, die ich gerade hierzu vornahm, zeigten aber, daß auch bei weitgehenden Verbrennungsprozessen das Unterhautzellgewebe doch noch eine genügende Klebekraft behält und sich im Frischschneideverfahren verarbeiten läßt. Die fetzig abgehobene Oberhaut haftet dann selbst nicht mehr fest auf dem Objekträger, wird aber (bei gut erhaltener Schneidbarkeit) oft noch

¹ Radtke hat vor einiger Zeit bereits kurz auf ähnliche Erfahrungen hingewiesen, die zum Teil allerdings sich auf *fixiertes* Material beziehen, wie ich aus seiner Arbeit und einer persönlichen Mitteilung entnehme. Da damit aber das wesentliche Prinzip des Verfahrens, nämlich die Klebekraft des Gewebeeiweißes und ihre Ausnutzung für die Fremdkörperhaftung im Gewebe verlassen ist, möchte ich, um Mißverständnisse zu vermeiden, ausdrücklich darauf hinweisen, daß meine Ergebnisse Untersuchungen von Lungen in *unfixiertem* Zustande betreffen und daß ich gerade diesem Originalverfahren den wesentlichen Vorzug beimesse.

von feinen Gewebsverbindungen mit dem subcutanen Gewebe gehalten und läßt sich somit technisch noch leidlich verarbeiten. Erst bei tiefer reichender Hautverkohlung versagt die Methode infolge aufgehobener Klebefähigkeit des Gewebes. Es wird in praktischen Fällen aber stets ein Versuch angebracht sein, der — wenn erfolgreich — Zeit und Mühe spart.

In gleicher Weise gut verarbeiten ließen sich *Hautverbrühungen*.

Besonders bemerkenswert erscheint mir hierbei, daß der Blaseninhalt bei dem Frischschneideverfahren erhalten bleibt und mit auf den Objektträger übertragen wird. Es bedarf keines weiteren Hinweises auf die Bedeutung dieses Vorganges für die Entscheidung der Frage: „vitale oder postmortale Verbrühung“. Nebenstehende Abb. 1 zeigt dies an einem praktischen Fall, wo aus dem Leukozytengehalt des Blaseninhalts (neben Randstellung von Leukocyten in Arterien und Capillaren) auf *vitale* Entstehung der Verbrühung geschlossen werden konnte.

Im Zusammenhang hiermit sei auch auf die Bedeutung dieser Methode für die Untersuchung von Hautver-

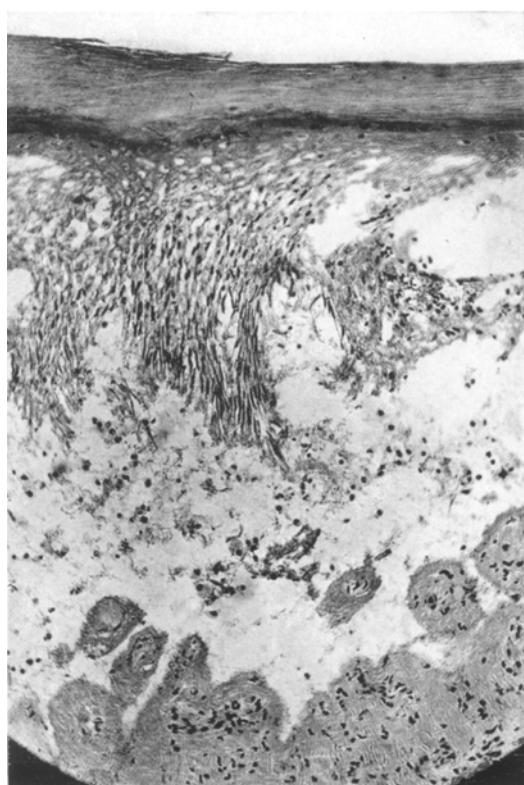


Abb. 1. Ausschnitt aus vitaler Verbrühungsblase mit Langziehung der Basalzellen (Übertragung des leukozytenhaltigen Blaseninhalts auf den Objektträger). Vergr. 160 : 1.

trocknungen bezüglich ihrer vitalen Entstehung hingewiesen. Hierbei hat sich mir zur Erzielung guter Schneidbarkeit ihre vorsichtige Aufweichung in einem Gemisch von Blutserum + physiolog. NaCl-Lösung (etwa 2:1) als besonders günstig erwiesen, da damit die Klebekraft in den vertrockneten Teilen wieder hergestellt wird, während NaCl-Lösung allein wahrscheinlich wegen zu starker Auslaugung der Eiweißkörper keine so günstigen Ergebnisse zeitigte.

Schließlich untersuchte ich auch noch mit der *Schultz-Braunsschen*

Methode Hautmaterial, das durch Fäulnis oder Wasseraufenthalt postmortal verändert war. Auch hierbei waren die Ergebnisse außerordentlich günstig. Selbst bei fortgeschrittener Fäulnis, u. a. in einem Fall nach Wasseraufenthalt einer Leiche von 9 Wochen und bei eben beginnender Fettwachsbildung, waren noch genügend klebefähige Eiweißkörper vorhanden, die eine technische Verarbeitung in unfixiertem Zustande gestatteten und vor allem dabei dünne Schnitte erzielen ließen. Wie bedeutsam die rasche Verarbeitungsmöglichkeit und schnelle Diagnosestellung gerade an dem sonst so ungünstigen Hautmaterial für die forensische Praxis sein kann, beweist folgender Fall:

Eine unbekannte Wasserleiche wurde unserem Institut zugeführt, deren weitgehend gelöste Oberhaut an umschriebener Stelle des Unterarmes die Reste einer schwärzlichen Einlagerung im freiliegenden Corium zeigte. Die sofort vorgenommene histologische Untersuchung am unfixierten Gewebe ergab in den Lymphspalten daselbst schwarze Kohlepigmenteinlagerungen. Es konnte daraufhin dem die Ermittelungen leitenden Beamten sofort als wertvolles Indiz gesagt werden, daß mit größter Wahrscheinlichkeit hier eine Tätowierung bestanden habe.

Gerade dieser Fall dürfte den besonderen Vorzug der Methodik, nämlich die Zeitersparnis, beleuchten. Hätte man zur Beantwortung der dabei aufgeworfenen Frage: „Tätowierung oder unspezifische Verfärbung?“ die bisherigen Untersuchungsmethoden heranziehen müssen, so wäre eine ganze Reihe von Tagen mit den zeitraubenden technischen Vorbereitungen sicherlich verstrichen, ehe man zur Diagnosestellung gekommen wäre.

Zusammenfassung.

Die *Schultz-Braunssche* Methode des Gefrierschneidens unfixierter Gewebe bedeutet für die forensische Untersuchungspraxis eine wertvolle Bereicherung der histologischen Technik. Ihre Erprobung an forensischem Material — ergänzt durch experimentelle Studien — führte zu dem Resultat, daß sie auch an postmortal durch Fäulnis sowie thermische oder andere Einwirkungen verändertem Gewebe erfolgreich, insbesondere zeitsparend sich anwenden läßt. Ganz besondere Vorteile gegenüber den bisherigen Untersuchungsmethoden bietet sie für die histologische Diagnostik der Haut, für welche ich sie als die „Methode der Wahl“ bezeichnen möchte.

Literaturverzeichnis.

- Buhtz*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **18**, 609 (1932). — *Gerlach*, W., Dtsch. Z. gerichtl. Med. **22**, 438 (1934). — *Radtke*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **20**, 267 (1933). — *Romeis*, Taschenbuch der mikroskopischen Technik. München u. Berlin: Oldenbourg 1932. — *Schultz-Brauns*, Klin. Wschr. **1931**, 113 — Z. Mikrosk. **48**, 161 (1931) — Zbl. Path. **50**, 273 (1931) — Zbl. Path. **54**, 225 (1932).
-