

Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. WOLFGANG LAVES).

Chemische Vorgänge bei der Lösung der Totenstarre.

Von

FRIEDRICH SCHWARZFISCHER.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Juli 1948.)

Die Vorgänge bei der Entstehung der Totenstarre haben in neuerer Zeit eine weitgehende Klärung gefunden. DAINTY, KLEINZELLER, LAWRENCE, MIALL, NEEDHAM J., O. M. NEEDHAM und SHEN⁵, dann ERDÖS⁷, SZENT-GYÖRGYI²⁶ und BATE-SMITH und BENDALL² haben einen Zusammenhang zwischen Muskelhärte und Adenosintriphosphorsäuregehalt nachgewiesen. Es zeigt sich, daß der Gehalt des Muskels an Adenosintriphosphorsäure postmortal mit zunehmender Starre sinkt, so daß die Adenosintriphosphorsäure im Maximum des Rigor mortis nicht mehr nachweisbar ist. Über die Ergebnisse dieser Untersuchungen sowie über die früheren Hypothesen der Entstehung der Totenstarre wurde von W. LAVES¹⁵ ausführlich berichtet.

Über die chemischen Vorgänge, die zur Lösung der Totenstarre führen, liegen dagegen nur wenige Angaben in der älteren Literatur vor. Die nach dem Rigor einsetzende Erschlaffung der Muskulatur läßt sich nicht mit der physiologischen Erholungsphase des lebenden Muskels vergleichen. Dagegen hat sie eine gewisse Bedeutung für die gerichtliche Medizin, da aus dem Zeitpunkt des Eintritts der Lösung des Rigor Rückschlüsse auf die mutmaßliche Todeszeit gezogen werden können. Aus diesem Grunde sollte, von den Ergebnissen BATE-SMITHS und BENDALLS ausgehend, auf Anregung von Herrn Prof. Dr. W. LAVES, das Verhalten der Milchsäure, des Ammoniaks und des p_H während der Lösung der Totenstarre experimentell geprüft werden.

Methodik.

1. *Härtebestimmung des Muskels.* Um über den augenblicklichen Zustand der Muskulatur klar zu werden und die Lösung der Starre fortschreitend registrieren zu können, war die jeweilige Härte des Muskels festzustellen. Hierzu diente die gewichtssklerometrische Methode von MANGOLD¹⁹. An einem Stativ wurde ein zweiarmiger Hebel befestigt. Am längeren Teil des Hebels wurde eine senkrecht stehende Pelotte angebracht; das Ende dieses Hebelteiles lief in eine Hartgummi-spitze aus, die vor einer Skala spielte. Der kürzere Hebelarm trug ein ver-schiebliches Gewicht zur horizontalen Einstellung des Hebelgleichgewichtes. Die

Pelotte wurde nun dem zu messenden Muskel gerade ohne Druck aufgesetzt, wobei der Hebel horizontal im Gleichgewicht war. Dann wurde ein Häkchen des längeren Hebelarmes mit einem Gewicht von 5 und 10 g belastet. Darauf sank die Pelotte je nach dem Muskelzustand verschieden tief ein, und der Ausschlag der Hartgummispitze konnte an der Skala abgelesen werden. Um möglichst genaue Werte zu bekommen, wurde der Muskel durch Gewichtszüge fixiert und nach der Messung das aufgelegte Gewicht sofort wieder entfernt. Austrocknungserscheinungen des Muskels konnten durch Aufbewahrung in einer feuchten Kammer vermieden werden. Um von den absoluten Zahlen unabhängig zu sein, wurde der Anfangswert = 100 gesetzt und das Ergebnis in Kurvenform aufgezeichnet.

2. *Milchsäurebestimmung des Muskels.* Zur Bestimmung der Milchsäure konnte zum größten Teil die von HAHN¹¹ angegebene Methode angewendet werden. Man nimmt demnach 5 g Muskelbröi, der mit 25 cm³ neutralem Phosphatpuffer, der im Verhältnis von 2 Volumteilen Puffer mit 1 Volumteil Wasser verdünnt war, versetzt wird. Nun wird die Enteiweißung nach dem Verfahren von EMBDEN vorgenommen, indem man zum Ansatz 20 cm³ 4%iger Salzsäure und 40 cm³ gesättigte Sublimatlösung gibt. Nach mehreren Stunden langem Stehen wird in einen Meßzylinder umgefüllt und bis zur Marke 200 mit Wasser aufgefüllt und dann durch ein Faltenfilter filtriert. 150 cm³ des Filtrats werden nun gegen Phenolphthalein bis zur ersten Andeutung einer Rotfärbung mit konzentrierter Natronlauge neutralisiert. Um nun die in Lösung vorhandenen Kohlenhydrate auszufällen, gibt man 20 cm³ einer 10%igen Kupfersulfatlösung und 40 cm³ Kalkmilch zu. Nachdem man nun den Meßzylinder noch bis zur Marke 300 mit Wasser aufgefüllt hat, schüttelt man kräftig durch und läßt den Inhalt $\frac{1}{2}$ Stunde stehen. Dann filtriert man 100 cm³ zur Milchsäurebestimmung ab, die noch bis zum Verschwinden der Rotfärbung durch Phenolphthalein mit 10%iger Schwefelsäure neutralisiert werden.

Um die Gesamtmenge an Milchsäure zu erhalten, ist die gefundene Milchsäuremenge mit $\frac{200 \cdot 300}{100 \cdot 150}$ zu multiplizieren.

Im weiteren Verlauf der Untersuchung mußte auf die von v. FÜRTH und CHARNAS⁸ angegebene Methode zurückgegriffen werden, die zwar etwas ungenauere Ergebnisse erzielt, aber mit einem einfachen Destillationsapparat durchgeführt werden kann. Die 100 cm³ Filtrat wurden zu 300 cm³ einer 1%igen Schwefelsäure in den Kolben des Destillationsapparates gegeben und während des Siedens der Flüssigkeit langsam n/10-Kaliumpermanganatlösung zutropft, wodurch die Milchsäure zum Aldehyd oxydiert wurde. Dieser konnte dann leicht bestimmt werden.

3. *Bestimmung des Ammoniaks im Muskel.* Größere Schwierigkeiten entstanden bei der Bestimmung des Ammoniakgehaltes des Muskels, da anfangs immer zu hohe Werte auftraten, weil unter der Wirkung der Erwärmung aus Aminverbindungen Ammoniak abgegeben wurde. Schließlich gelang es durch Kombination verschiedener Methoden Werte zu erreichen, die richtig erschienen.

Das Prinzip war, Ammoniak durch Alkali frei zu machen, in vorgelegte n/50-Säure zu destillieren und den Überschuß der Säure mit n/50-Lauge zurückzutitrieren. Man zerreibt 5 g Muskel möglichst schnell in der Reibschale mit Quarzsand in 10 cm³ kalt gesättigter Boratlösung, die durch Kochen ammoniakfrei gemacht worden war. Auf diese Weise ist es möglich, die von PARNAS und MOZOLOWSKI²⁴ beschriebene traumatische Ammoniakbildung auszuschalten. So gelang es, die in jedem Augenblick tatsächlich vorhandene freie Ammoniakmenge festzustellen, da auch die Ausschaltung der zweiten Fehlerquelle, die Abspaltung

von Ammoniak aus Eiweißverbindungen, durchführbar war. Zu diesem Zweck wurde der Muskelbrei mit 95%igem Alkohol enteiweißt. Erst nach dieser Enteiweißung konnte an die eigentliche Ammoniakbestimmung gegangen werden. Im Kolben des Destillationsapparates wurde der Ammoniak durch Natronlauge und gesättigte Na-Carbonatlösung durch Erwärmung bis 32° C in Freiheit gesetzt und in der Vorlage aufgefangen. Die Vorlage war mit n/50-Schwefelsäure beschickt und der nichtgebundene Teil der Säure wurde bei Anwesenheit von Methylorange als Indicator mit n/50-Natronlauge zurücktitriert.

4. *Bestimmung des p_H -Wertes.* Die p_H -Werte wurden mit dem Folienkolorimeter gemessen.

Versuchsergebnisse.

Während der Lösung der Totenstarre fällt vor allem ein steiler Anstieg der Ammoniakbildung auf, wie das folgende Beispiel zeigt:

NH ₃ -Gehalt bei der Muskelentnahme	2,04 mg-%
„ nach 24 Stunden	4,76 mg-%
„ „ 30 „	6,04 mg-%
„ „ 36 „	7,14 mg-%

Die Angaben von BATE-SMITH und BENDALL, wonach die Milchsäurebildung die Ausbildung der Starre überdauert, konnte ich bestätigen. Die Menge der nachgebildeten Milchsäure ist in den einzelnen Versuchen verschieden. Nach einer gewissen Zeit, im allgemeinen 4—6 Stunden nach der Muskelentnahme, war aber dann regelmäßig ein Absinken der Milchsäure nachweisbar. Die Höhe des Milchsäuregehaltes hat auf die Lösung der Totenstarre keinen Einfluß (Abb. 1—3).

Die p_H -Messungen ergaben in der Starre Werte bis 5,8, während bei der Lösung der Starre eine Verschiebung in alkalischer Richtung eintrat, die bis zu p_H 6,4 fortschritt.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse von BATE-SMITH und BENDALL ergibt sich folgende Tabelle.

Tabelle 1.

Muskelzustand	Anorganisch P mg/g	Polyphosphat P mg/g	Milchsäure mg/g	NH ₃ mg/%	p_H
Augenblick des Todes	0,71	0,47	3,96		6,83
Starre nach 7½ Stunden	0,96	0,14	8,75		5,90
Lösungsbeginn			5,49	2,04	5,8
nach 5 Stunden			5,95	3,12	5,9
„ 24 „			4,80	4,76	6,0
„ 30 „			4,82	6,04	6,3
„ 36 „			4,76	7,14	6,4

Zur Härtebestimmung und chemischen Untersuchung wurden die Muskeln symmetrisch aus der Adductorengruppe des Oberschenkels.

entnommen und in einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur (15—20° C) aufbewahrt. Durch Temperaturunterschiede haben sich

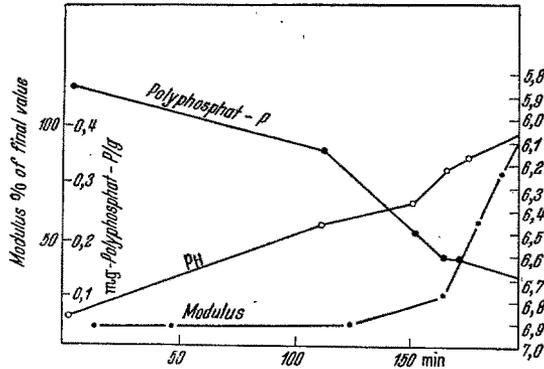


Abb. 1. Abfall der Polyphosphatkurve während der Entstehung der Totenstarre. (Nach BATE-SMITH und BENDALL.) Die Ziffern an der rechten Seite der Abbildung bezeichnen das pH .

gewisse Schwankungen in der Geschwindigkeit des Ablaufs der chemischen Umsetzungen nicht vermeiden lassen. Dieser Umstand dürfte

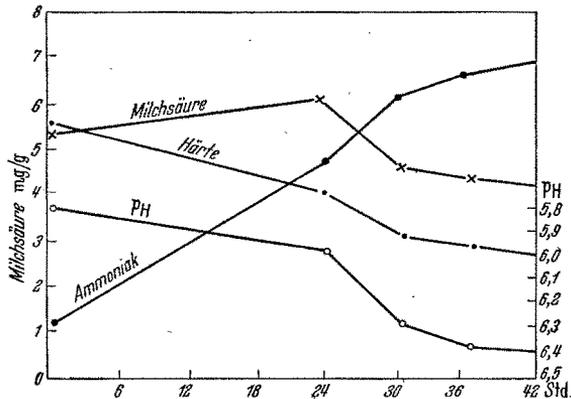


Abb. 2. Ammoniakanstieg während der Lösung der Totenstarre bei hohem Milchsäuregehalt (eigener Versuch). Die Ziffern an der linken Seite der Abbildung entsprechen Milchsäure und Ammoniak in mg/g .

aber auf die Tatsache des Ammoniakanstieges als solche und die Neubildung der Milchsäure keinen Einfluß haben. Bei erniedrigten Temperaturen tritt nur eine Verlangsamung der Ammoniakbildung (LUTWACK und MOZOLOWSKI¹⁸) und der Milchsäurebildung (MEYERHOF²⁰) auf (Abb. 4). Es war auch zu prüfen, ob das Arbeiten unter aeroben Bedingungen eine Hemmung der Milchsäurebildung bedingt. Es konnte aber zwischen den der feuchten Kammer entnommenen Muskeln und

den bei geeigneter Technik anaerob gehaltenen Muskeln kein nennenswerter Unterschied festgestellt werden. Zu demselben Ergebnis waren

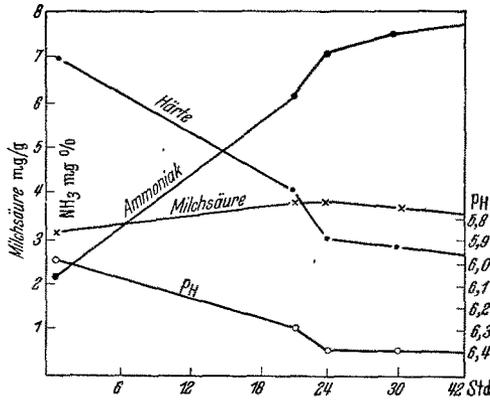


Abb. 3. Ammoniakanstieg während der Lösung der Totenstarre bei niederem Milchsäuregehalt (eigener Versuch).

auch MEYERHOF und SCHULZ²² gekommen. Warum bei meinen Untersuchungen durchwegs etwas tiefere Milchsäurewerte ermittelt wurden

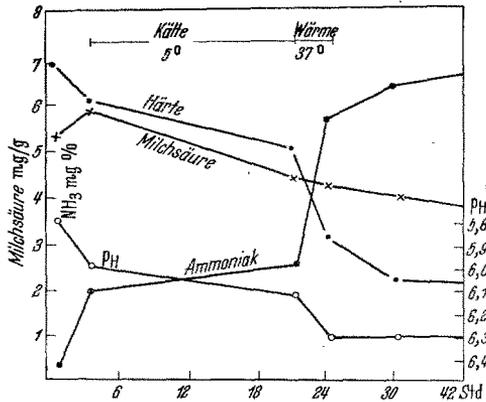


Abb. 4. Temperaturabhängigkeit von Ammoniakanstieg und Lösung der Totenstarre (eigener Versuch).

als von BATE-SMITH und BENDALL, ist wohl infolge der heute schlechten Ernährungsbedingungen auf den geringeren Glykogengehalt der Muskulatur zurückzuführen.

Die Tatsache der postmortalen Ammoniakbildung wurde schon in vielen Arbeiten erwähnt (LEE und TASHIRO; WARBURG, NEGELEIN und POSENER²⁷; MEYERHOF, LOHMANN und MEIER²¹; GAD ANDERSON¹⁰; HOAGLAND, MCBRIDGE und POVICK¹²). Mit größerer Genauigkeit wurde sie von PARNAS^{23, 24} untersucht. Er fand nur sehr niedere Werte.

Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von EMBDEN ⁶, dessen Werte bedeutend höher liegen und bis zu 14,5 mg-% ansteigen. In diesen Versuchen liegen die Werte über denen von PARNAS, erreichen aber nicht die von EMBDEN angegebene Höhe.

Die Angaben über das p_{H} der Muskulatur im Zustand des Rigor decken sich mit denen anderer Autoren; so haben die Messungen von FURUSAWA, PHYLLIS und M. T. KERRIDGE ⁹, die mit einer von Mrs. KERRIDGE ^{13, 14} konstruierten Glaselektrode ausgeführt wurden, z. B. einen Wert von p_{H} 5,87 bei der Muskelstarre ergeben. CARLSTRÖM, EGE und HENRIQUES ⁴ fanden ein C_{H} von 5,9.

Welche Beziehung könnte nun zwischen diesen Befunden und dem Vorgang der Lösung bestehen?

Die Lösung hat H. H. WEBER ²⁹ auf eine Zerquellung, also Strukturzerstörung, infolge der Milchsäurebildung zurückführen wollen. Diese Hypothese hält auch H. H. WEBER selbst nach einer brieflichen Mitteilung heute nicht mehr für berechtigt. Dagegen wäre infolge anderer primärer chemischer Vorgänge eine Strukturzerstörung oder mindestens Viscositätsänderung der Eiweißkörper möglich. Es ist aber auch denkbar, daß die Strukturzerstörung der Eiweißkörper im Vordergrund steht, deren Ausdruck die chemisch faßbaren Veränderungen bilden.

Damit ergibt sich die Frage, ob der Ammoniakanstieg die Lösung des Rigor bedingt, oder ob er nur ein chemisch faßbares „Symptom“ konstitutioneller Änderungen der Muskeleiweißkörper bildet.

Ammoniak tritt nicht nur ausschließlich postmortal in Erscheinung. Auch während der Kontraktion des lebenden Muskels wird in geringer Menge Ammoniak gebildet. Nach Untersuchungen von PARNAS, EMBDEN, MEYERHOF u. a. ist die Ammoniakbildung auf den Zerfall von Kreatin und Adenosintriphosphorsäure zurückzuführen. Auf die Beziehungen zwischen Ammoniakabspaltung und Schwund der Pyrophosphatfraktion (Adenosintriphosphorsäure) hat schon LUNDSGAARD ^{16, 17} und später BARRENSCHEEN und FRITZ ¹ hingewiesen. Auch während der Ausbildung der Totenstarre hält sich die Ammoniakbildung nur in sehr niederen Grenzen, um erst mit beginnender Lösung plötzlich in die Höhe zu gehen. Dabei besteht keine Abhängigkeit von der Milchsäurebildung, die ja noch eine gewisse Zeit weiterläuft oder in Fällen alkalischer Starre gar nicht vorhanden ist. BERNSTEIN ³ zeigte nun, daß Ammoniakdampf innerhalb weniger Minuten die völlige Erschlaffung des kontrahierten Muskels bedingt. Auch SCHWENKER ²⁵ und WILMERS ²⁹ haben diese Erscheinung beschrieben. Somit würde dem Ammoniak an sich eine entscheidende Rolle für die Lösung der Starre zuzuschreiben sein.

Es ist nun aber zu berücksichtigen, daß bis zum Beginn der Lösung des Rigor 24—48—62 Stunden post mortem vergehen und auch die

Lösung selbst erhebliche Zeit beansprucht. In dieser langen Zeitspanne spielen sich autolytische Vorgänge ab. Abgesehen von bakteriellen Einflüssen können körpereigene proteolytische Fermente einwirken. Somit dürfte der Ammoniakanstieg wohl auf einer strukturellen Änderung der Muskeleiweißkörper beruhen. Vielleicht kann der auf diese Weise entstandene Ammoniak auf benachbarte Muskelfibrillen einwirken und zu deren Lösung beitragen.

Ogleich noch weitere Untersuchungen erforderlich sind, wird es somit wahrscheinlich, daß die während der Lösung der Totenstarre nachgewiesene Ammoniakbildung vor allem als ein Ausdruck der Veränderungen der Muskeleiweißkörper durch proteolytische Fermentwirkung aufzufassen ist. Im Gegensatz zur Entstehung der Starre handelt es sich bei der Lösung nicht um einen supravitalen, sondern postmortalen Prozeß.

In diesem Sinne würde auch folgende Beobachtung sprechen: Es zeigte sich, daß die Muskelhärte proportional der Ammoniakbildung abnahm, wie aus der Abb. 4 hervorgeht. Dieser Vorgang war temperaturabhängig. In der Kälte war die Ammoniakbildung ebenso gehemmt wie die Lösung des Rigor, während bei 37° C sowohl die Ammoniakbildung als auch die Abnahme der Muskelhärte sehr rasch eintrat.

Herrn Prof. Dr. W. LAVES danke ich für die Unterstützung bei den Experimenten und der Abfassung der Arbeit.

Zusammenfassung.

1. Bei der Untersuchung von Muskelextrakten ergibt sich während der Lösung der Totenstarre stets ein steiler Ammoniakanstieg, Nachbildung von Milchsäure mit folgendem Rückgang der Milchsäurebildung und Verschiebung des p_H -Wertes bis zu 6,4.

2. Die zunehmende Ammoniakbildung während der Lösung der Totenstarre ist wahrscheinlich auf proteolytische Veränderungen der Muskeleiweißkörper zurückzuführen.

Literatur.

- ¹ BARRENSCHEEN u. FRITZ: *Biochem. Z.* **240**, 407 (1931). — ² BATE-SMITH and BENDALL: *J. Physiol. (Brit.)* **106**, 166, 177 (1947). — ³ BERNSTEIN: Untersuchungen an dem physiologischen Institut Halle a. d. S. 1890, H. 2. — ⁴ CARLSTRÖM, EGE u. HENRIQUES: *Biochem. Z.* **198**, 442 (1928). — ⁵ DAINTY, KLEINZELLER, LAWRENCE, MIALL, J. NEEDHAM, O. M. NEEDHAM and SHEN: *J. gen. Physiol. (Am.)* **27**, 355 (1944). — ⁶ EMBEDEN: *Klin. Wschr.* **1930**, 1339. — ⁷ ERDÖS: *Stud. Inst. med. Chem. Univ. Szeged, Hung.* **3**, 51 (1943). — ⁸ FÜRTH, v. u. CHARNAS: *Biochem. Z.* **26**, 199 (1910). — ⁹ FURUSAWA, PHYLLIS and M. T. KERRIDGE: *J. Physiol.*

- (Brit.) 53 (1927). — ¹⁰ GAD ANDERSON: J. biol. Chem. (Am.) 39, 267 (1919). —
¹¹ HAHN: Einführung in die physiologisch-chemischen Arbeitsmethoden. —
¹² HOAGLAND, MC. BRIDGE and POVICK: U.S.-Dep. Agric. Bull. 1917, 433. — ¹³ KERRIDGE: Biochem. J. (Brit.) 19 (1925). — ¹⁴ KERRIDGE: J. Sci. Inst. 3 (1926). —
¹⁵ LAVES: Z. gerichtl. Med. 39 (1948). — ¹⁶ LUNDSGAARD: Biochem. Z. 217, 162 (1930). — ¹⁷ LUNDSGAARD: Biochem. Z. 227, 51 (1930). — ¹⁸ LUTWAK u. MOZOLOWSKI: Biochem. Z. 272, 157 (1934). — ¹⁹ MANGOLD u. INAOKA: Pflügers Arch. 196, 200 (1922). — ²⁰ MEYERHOF: Pflügers Arch. 182, 250 (1920). — ²¹ MEYERHOF, LOHMANN u. MEIER: Biochem. Z. 157, 459 (1925). — ²² MEYERHOF u. SCHULZ: Biochem. Z. 236, 54 (1931). — ²³ PARNAS: Biochem. Z. 245, 64 (1934). — ²⁴ PARNAS u. MOZOLOWSKI: Biochem. Z. 184, 399 (1927). — ²⁵ SCHWENKER: Pflügers Arch. 157, 371 (1924). — ²⁶ SZENT-GYÖRGYI: Stud. Inst. med. Chem. Univ. Szeged, Hung. 1, 5 (1941/42). — ²⁷ WARBURG, NEGELEIN u. POSENER: Biochem. Z. 152, 355 (1924). — ²⁸ WEBER, H. H.: Pflügers Arch. 187, 163 (1921). — ²⁹ WILMERS: Pflügers Arch. 178, 198 (1920).
-