

## Polarisationsoptische Untersuchungen der elektrischen Strommarke

E. SOMOGYI, P. SÓTONYI, G. RÓZSA, J. IRÁNYI, B. OROVECZ  
und K. IRÁNYI

Institut für gerichtliche Medizin der Medizinischen Universität (Direktor: Professor Dr. S. ÖKRÖS); Staatliches Institut für Rheuma- und Balneologie (Direktor: Professor Dr. K. FARKAS); Staatlicher Rettungsdienst (Direktor: Dr. B. OROVECZ);  
Klinik für Psychiatrie der Medizinischen Universität  
(Direktor: Professor Dr. Gy. NYIRÖ), Budapest

Eingegangen am 20. Januar 1965

Die polarisationsoptischen Untersuchungen gestatten einen Einblick in feinere strukturelle Veränderungen solcher Gebiete, in denen das Auflösungsvermögen des Lichtmikroskopes nicht mehr genügt. Der wichtigste Beweis für einen elektrischen Stromdurchgang ist die Strommarke. Das Hauptziel der Untersuchung war, die Veränderungen der kollagenen Struktur zu beobachten, die auf die Wirkung des elektrischen Stromes zurückzuführen sind, bzw. die Ausarbeitung einer solchen Methodik zu fördern, die für einen spezifischen Beweis des Stromdurchflusses geeignet ist.

### *Methodik*

Für die Beobachtungen wurde Leichenhaut von solchen Personen verwendet, die durch elektrischen Strom gestorben waren. Die Entnahme der Hautstückchen erfolgte 2—12 Std post mortem. Die herausgeschnittenen Hautstücke wurden in 4%igem Formalin und in Carnoyscher Lösung fixiert. Nach Herstellung von Gefrierschnitten erfolgte die Einfärbung mit Anilin, Phenol und Rivanol; weiterhin kamen die durch ROMHÁNYI<sup>3</sup> beschriebenen präcipitationsanisotropen Färbefahren mit Methylenblau und Toluidinblau zur Anwendung. Die Präcipitation wurde nach der beschriebenen Methode bei Methylenblau mit 2%igem Kaliumbichromat, bei der Toluidinblau-Methode mit 2%igem Kaliumferricyanid herbeigeführt. In der Anilin-Reaktion wurde nach ROMHÁNYI<sup>6</sup> Amylacetat, bei der Rivanol-Methode aber 0,1 M Rivanol zu  $\frac{1}{4}$  und  $\frac{1}{2}$  mit destilliertem Wasser verdünnt benutzt. Bei Tuoluidinblau und Methylenblau wurde mit 1%igen Lösungen in der Michaelisschen Pufferserie von pH 2,9 bis pH 8,9 gefärbt.

Die Fasern des Bindegewebes wurden in Konzentrationen von 0,25, 0,1, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 und 5,0 mg/ml verdaut durch Elastase crudum, das in Carbonat-HCl-Puffer von 0,1 M gelöst war in pH-Konzentrationen von 4,5, 6,5, 7,4 und n/40 bei pH 8,8. Zugleich wurde die Ursache der Verdauung in der Funktion der Zeit in einem Thermostaten bei 37° C geprüft. Zur Kontrolle des Verdauungszustandes der kollagenen Fasern wurde neben den polarisationsoptischen Untersuchungen auch mit den Färbungen nach VAN GIESON, MALLORY und ESKELUND gearbeitet.

Die Doppelbrechung der Fasern wurde mit einem Kompensator von 137,5  $\mu$  Gangunterschied gemessen. Die Meßergebnisse zeigen die Werte des mathematischen Durchschnitts von 300 Einzelmessungen. Als Kontrolle wurden in jedem Fall unversehrte, den geschädigten Hautstellen entsprechende Gebiete untersucht.

*Beobachtungen*

Es ist auf Grund der Untersuchungen von ROMHÁNYI<sup>4</sup> bekannt, daß die elastischen Fasern nach der Anwendung der Anilin-Reaktion intensiv doppelbrechend werden, während die kollagenen Fasern isotrop werden, d. h. ihre Doppelbrechung wird ausgelöscht. Diese Beobachtung beschrieb

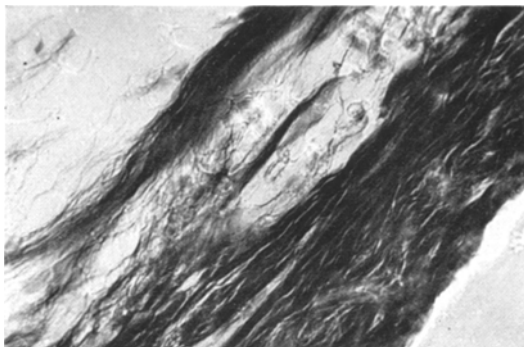


Abb. 1. Anilin-Reaktion unmittelbar an der Einwirkungsstelle des elektrischen Stromes. Starke negative Doppelbrechung

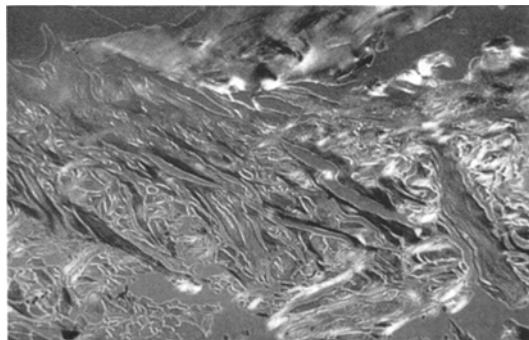


Abb. 2. Aufhören der Phenol-Reaktion an der Stelle der Strommarke

er bei der Untersuchung der elastischen Fasern der Gefäßwand. In 15 untersuchten Fällen konnte nun signifikant nachgewiesen werden, daß am Ort der Strommarke die kollagenen Fasern eine intensive negative Doppelbrechung aufweisen, während sie in unversehrten Gebieten isotrop wurden, ihre Doppelbrechung aufhörte.

An der Stelle der Strommarke wurde die Phenol-Reaktion ausgesprochen schwächer, sie hörte beinahe vollständig auf, während die Rivanol-Reaktion erheblich stärker wurde, obwohl bei unversehrten Verhältnissen neben einer starken Phenol-Reaktion der kollagenen Fasern eine bedeutend schwächere Rivanol-Reaktion wahrzunehmen war (Abb. 2 und 3).

ROMHÁNYIS Sulfurierungsuntersuchungen an kollagenen Fasern<sup>5</sup> bewiesen eindeutig, daß das Freiwerden der Säureradikale die orientierende Assoziation der Phenolmoleküle hemmt, dagegen die Anlagerung des basischen Rivanols fördert. Nach der Blockierung der Sulfatradikale kehrte die Phenol-Reaktion in voller Intensität wieder. Die Rolle der an

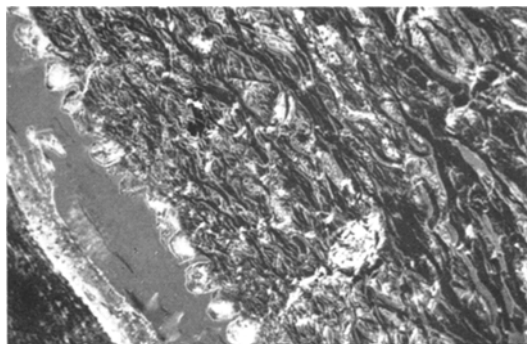


Abb. 3. Verstärkte Rivanol-Reaktion an der Stelle der Strommarke

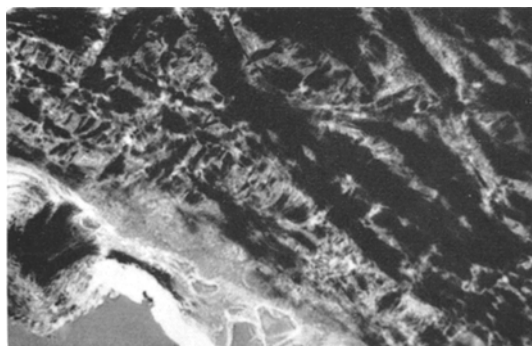


Abb. 4. Verstärkung der Phenol-Reaktion nach Methylierung

der Strommarke infolge von Wärme frei gewordenen Säureradikale scheint durch die Tatsache bestätigt zu werden, daß die Rivanol-Reaktion beinahe vollständig aufhört, die geschwächte bzw. aufgehobene Phenol-Reaktion aber in ihrer ursprünglichen Stärke wiederkehrt, wenn die freien Säureradikale durch in Methanol gelöster 0,1 m HCl 24 Std lang bei 60° C methyliert wurden. Auch die in Elastase vor sich gehende Lösung der kollagenen Fasern beweist die strukturelle Veränderung, das Freiwerden der Säureradikale, da diese bei unversehrten Verhältnissen keine Verdauung gezeigt haben. Nach HALL (zit. <sup>6</sup>) u. Mitarb. ist zur Anlagerung von Elastase die Anwesenheit von Säure-Seitenradikalen notwendig. ROMHÁNYI<sup>6</sup> hat nach der Sulfurierung die in Elastase vor sich gehende Lösung der kollagenen Fasern wahrgenommen; die gleichen

Beobachtungen machten BALÓ, BANGA, SZABÓ<sup>1, 2</sup> nach Kontraktion-Relaxation durch chemische Stoffe. Danach hat Elastase — in einer

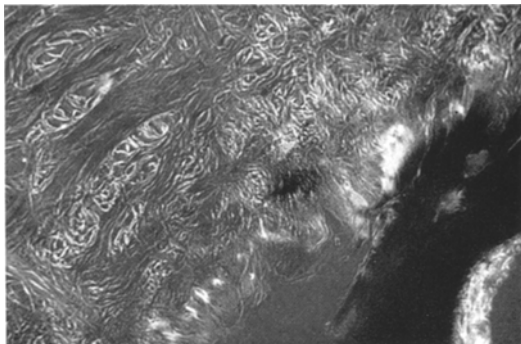


Abb. 5. Aufhören der Rivanol-Reaktion nach Methylierung

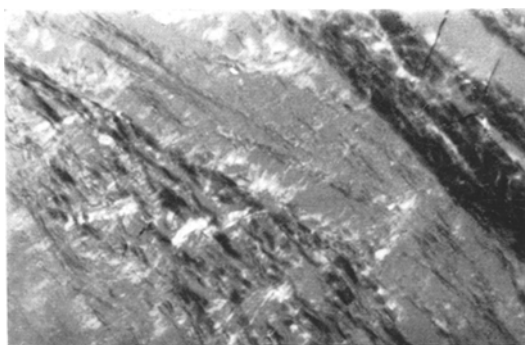


Abb. 6. Elastase-Verdauung: nach 20 min ist die Hornschicht verdaut

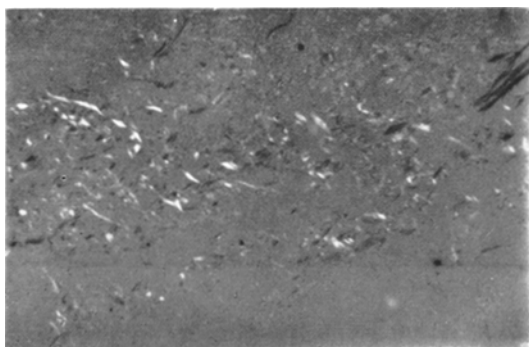


Abb. 7. Elastase-Verdauung: nach 1 Std ist die Verdauung des Kollagens bereits sichtbar

Konzentration von 4 mg/ml in einem Borat-Phosphat-Puffer von pH 7,4 und in einem n/40 Carbonat-HCl-Puffer von pH 8,8 gelöst — nach

20 min die Verdauung der Hornschicht herbeigeführt, an der Stelle der Strommarke wurde nach  $\frac{1}{2}$  Std eine schwache, nach 1 Std eine be-

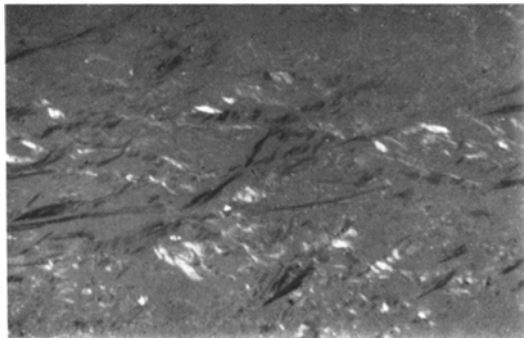


Abb. 8. Elastase-Verdauung: nach 2 Std Einwirkung deutliche Verdauung des Kollagens

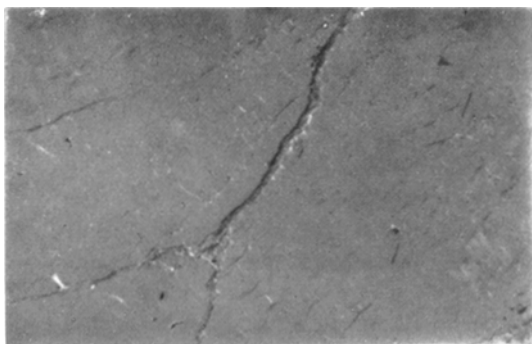


Abb. 9. Elastase-Verdauung: fast vollständige Auflösung der kollagenen Fasern nach 3 Std Einwirkung

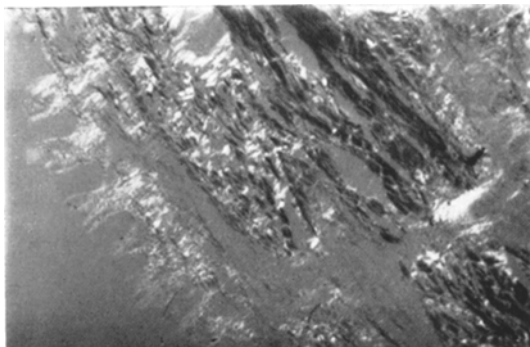


Abb. 10. Keine Verdauung nach Methylierung

deutende und nach 3 Std eine beinahe vollständige Lösung der kollagenen Strukturen beobachtet. Die unversehrten Gebiete zeigten keine Verdauung.

Waren die Säureradikale durch Methylierung gebunden, so blieb der Elastase-Verdauungsversuch auf dem lädierten Gebiet ergebnislos, die Fasern waren resistent (Abb. 4—10).

Durch die anisotropen Präcipitationsfärbeverfahren wurde die Quellung und die strukturelle Änderung der kollagenen Fasern augen-

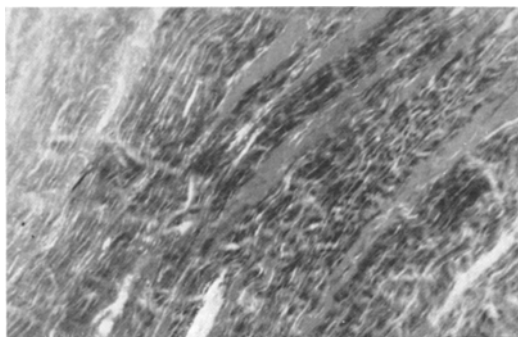


Abb. 11. Stenokollagen mit positiver Doppelbrechung und positivem Dichroismus im unversehrten Gebiet



Abb. 12. Übergang zwischen unversehrt und geschädigtem Gebiet mit Auftreten von Porokollagen mit negativer Doppelbrechung und negativem Dichroismus

fällig gezeigt. Bei der submikroskopischen Untersuchung des Bindegewebes unterschieden ROMHÁNYI<sup>5</sup> zwei Typen der kollagenen Faser: Das dichtstrukturierte im monochromatischen roten Licht einen positiven Dichroismus und erhöhte Doppelbindung aufweisende Stenokollagen und das einen negativen Dichroismus zeigende Porokollagen. Bei unseren Untersuchungen haben wir an dem Ort der Strommarke sowohl mit Methylenblau als auch mit Toluidinblau durch anisotrope Präcipitationsfärbung in jedem Fall das Porokollagen mit aufgelockerter Struktur gefunden. Die infolge der Einwirkung zustande gekommene ungewöhnlich große Diastase wird durch die Resultate der Messungsdaten be-

wiesen. Während die Doppelbrechung der unversehrten Gebiete  $+47\text{ m}\mu$ ,  $+51\text{ m}\mu$  beträgt, zeigt sie an der Stelle der primären Einwirkung Werte von der Größe  $-106\text{ m}\mu$  und  $-122\text{ m}\mu$ . Von den unversehrten Gebieten in Richtung der lädierten Gewebe fortschreitend, vermindert sich die positive Doppelbrechung allmählich und nach dem Umschlag erhöht sich der Wert der negativen Doppelbrechung. Die Meßmethoden ermöglichen den Nachweis der Schädigungen der kollagenen Fasern auch in solchen Gebieten, in denen die Färbungen von GIESON, MALLORY und ESKElund keine Abweichungen zeigen. So wurde in dem Doppel-

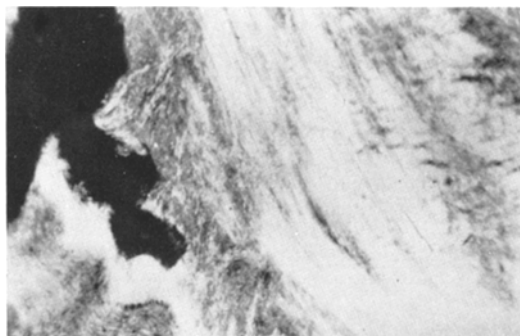


Abb. 13. Porokollagen unmittelbar an der Einwirkungsstelle des Stromes

brechungsintervall zwischen  $+10\text{ m}\mu$  und  $-30\text{ m}\mu$  mit den oben angegebenen Methoden kein Unterschied wahrgenommen (Abb. 11–13).

### *Diskussion*

Vergleicht man die Ergebnisse der polarisationsoptischen Methode, so kann festgestellt werden, daß an der Einwirkungsstelle der Strommarke eine chemische Veränderung der kollagenen Struktur zustande kam. Mittels der angewendeten polarisationsoptischen Verfahren konnte gegenüber dem unversehrten Kollagen eine wesentliche Abweichung der Reaktionsbereitschaft nachgewiesen werden. Die abweichende Reaktion des veränderten strukturellen Kollagens wird zum Teil durch die Vermehrung der frei gewordenen Säureradikale erklärt; eine Bestätigung hierfür ist in der Elastase-Verdauung, in der gesteigerten Rivanol-Reaktion und in der geschwächten bzw. aufgehobenen Phenol-Reaktion zu sehen. Diese Reaktionen lassen sich durch Methylierung umkehren. Auf Grund dieser Ausführungen scheint die Anwendung der polarisationsoptischen Untersuchungen zur Ausarbeitung einer solchen Methode zu führen, die für den Nachweis der elektrischen Strommarke bzw. der Untersuchung der sog. latenten Strommarken geeignet ist.

*Zusammenfassung*

Verfasser haben die polarisationsoptische Analyse der Strommarke durchgeführt; dazu haben sie die anisotropen Anilin-, Phenol- und Rivanol-Färbeverfahren und die anisotropen Präcipitations-Färbeverfahren mit Methylenblau und Toluidinblau angewendet. Der Widerstand der Fasern wurde mittels Elastase-Verdauung untersucht. Die obigen Reaktionen haben die strukturelle Veränderung der kollagenen Fasern, ihre Lösung in Elastase gezeigt. Die ungewöhnlich große strukturelle Diastase wurde durch die Resultate der Messungsdaten bewiesen; gegenüber der  $+47\text{ m}\mu$ ,  $+51\text{ m}\mu$  Doppelbrechung des unversehrten Kollagens betrug der Wert an der Stelle der Strommarke  $-106\text{ m}\mu$ ,  $-122\text{ m}\mu$ .

Zum Schluß bedanken sich Verfasser bei Professor Dr. ILONA BANGA für das ihnen lebenswürdigerweise zur Verfügung gestellte benötigte Elastase crudum.

**Literatur**

- <sup>1</sup> BALÓ, J., I. BANGA u. D. SZABO: Metakollagen als scheinbares Elastin. Mitt. biol. u. med. wiss. Sekt. Ung. Akad. Wiss. 8, 229 (1957).
- <sup>2</sup> — — — Contraction and relaxation of collagen fibers. Nature (Lond.) 174, 788 (1954).
- <sup>3</sup> ROMHÁNYI, G.: Über die submikroskopische strukturelle Grundlage der metachromatischen Reaktion. Acta histochem. (Jena) 15, 201 (1963).
- <sup>4</sup> — Über die submikroskopische Struktur der elastischen Fasern. Acta morph. Acad. Sci. hung. 3, 311 (1963).
- <sup>5</sup> — Die Rolle der Polarisationsmikroskopie in der Forschung der submikroskopischen Struktur. Morph. u. forens.-med. Rdsch. 3, 161 (1962).
- <sup>6</sup> — Mündliche Mitteilung in Pécs, 1964.

Dozent Dr. ENDRE SOMOGYI  
 Igazságügyi Orvostani Intézet  
 Budapest IX. Üllői út 93