

Untersuchungen über das Verhalten von Kupfer in und auf der Haut nach zufälliger und elektrischer Metallisation*

E. BÖHM

Institut für gerichtliche Medizin der Universität Heidelberg
(Direktor: Professor Dr. B. MUELLER)

Eingegangen am 14. Januar 1966

In einem von uns zu bearbeitenden praktischen Fall wiesen wir im Bereiche einer Hautverletzung, die durch elektrischen Strom entstanden sein *konnte*, histochemisch mit der Rubeanwasserstoff-Reaktion (PEARSE) im Bereiche der Hautverletzung Kupfer nach, und zwar nur an dieser Stelle, nicht an anderen Stellen. Auch an einer Hand der Leiche fanden sich fragliche elektrische Verletzungen, in deren Bereich von einem anderen Untersucher spektrographisch ziemlich viel Kupfer nachgewiesen worden war. Nun sagten Zeugen unter Eid aus, die Frau habe Sandalen getragen, bei denen die große Zehe, an der sich die Verletzung vorfand, in einem Messingring steckte. Das Kupfer, das im Bereiche der Verletzung an einer Hand festgestellt worden war, sollte vielleicht daher stammen, daß die Verstorbene an einem Kupferkessel hantiert und sich an diesem verbrannt hatte; sie sollte den Kessel vorher ausgescheuert haben; man dachte an die Möglichkeit, daß auf diese Weise Kupfer in die Wunde gekommen sein könnte. Im Bereiche einer Wunde an der Hand fand sich sogar eine beginnende Entzündung.

Nun spricht die von uns angewandte Rubeanwasserstoff-Reaktion nur auf ionisiertes, aber nicht atomares Kupfer an. War das Kupfer von dem Sandalen-Ring aus Messing in die Wunde gekommen oder handelte es sich um Kupfer, das beim Ausschmiegeln des Kupferkessels in die Wunde der Hand gekommen war, so müßte man zunächst daran denken, daß es sich um atomares und nicht um ionisiertes Kupfer gehandelt habe. Da bei der oben angeführten Reaktion eine Säure nicht benutzt wird, kommt eine Ionisierung des Kupfers durch Ansäuerung nicht in Betracht.

Ob sich atomares Kupfer, das auf die Haut oder in eine Hautwunde kommt, späterhin während des Lebens oder womöglich auch nach dem Tode in ionisiertes Kupfer umwandelt, darüber ergab sich aus dem

* Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. B. MUELLER, zu seinem 68. Geburtstag in Dankbarkeit gewidmet.

eingesehenen Schrifttum nichts. Wir nahmen uns daher vor, diese Frage durch experimentelle Untersuchungen zu klären.

Eigene Untersuchungen

Zunächst wurden folgende Vorversuche angestellt: Als Versuchsobjekt wurden 8 Wochen alte Albinoratten verwendet. Zunächst untersuchten wir den Übergang elementaren Kupfers in die ionisierte Form im lebenden Hautgewebe. 5 markierten ca. 8 Wochen alten Albinoratten wurde jeweils 1 g Kupfer unter die Rückenhaut implantiert (1 cm langer Schnitt, Unterminierung der Wundränder, Implantation, Einzelnähte), und zwar:

1. Kupfer fein gekörnt,
2. Kupfer gepulvert, elektrolytisch hergestellt,
3. Kupfer-Blech 0,1 mm dick,
4. Kupfer II-Oxyd (CuO),
5. Kupfer gekörnt, durch Erhitzen oberflächlich oxydiert.

Nach 3 Wochen wurden die Tiere getötet, die groben Kupferpartikel mechanisch entfernt. Von den betreffenden Hautpartien wurden Gefrierschnitte angefertigt. Die Darstellung des ionisierten Kupfers erfolgte nach der von PEARSE angegebenen Methode mittels Einstellen der auf Objektträger aufgezogenen Gefrierschnitte in eine 0,1%ige alkoholische Lösung (70%iger Äthylalkohol) von Rubeanwasserstoff für 10 min, danach für 24—48 Std in eine Mischung dieser Lösung mit Natriumacetat (0,1%ige Rubeanwasserstoffsäure in 70%igem Alkohol + 100 mg Natriumacetat auf 100 ml), danach evtl. Gegenfärbung mit Kernechtrot. Diese Methode benützten wir auch in den übrigen Versuchsanordnungen.

Bei mikroskopischem Vergleich der Serienschnittbilder ergab sich dabei eine maximale Ionisation bei dem gepulverten elektrolytisch gewonnenen Kupfer (das wir deshalb in allen weiteren Versuchen anwendeten). Das Kupferblech zeigte die geringste Ionisation, kein Unterschied war zwischen oxydierter und elementarer Form nachweisbar. Es ergibt sich somit eine eindeutige Abhängigkeit der Ionisation von Kupfer im Hautgewebe von der Größe der Oberfläche der Kupferteilchen (sie ist bei Kupferstaub viel größer als bei Kupferblech).

Als Kontrollversuch wurde einer Albinoratte der gleichen Serie feingeschnittene Kunststoff-Folie unter die Rückenhaut implantiert. Das Tier wurde ebenfalls nach 3 Wochen getötet. Ionisiertes Kupfer war mit der angegebenen Methode nicht nachweisbar.

Zunächst untersuchten wir, ob und mit welcher Geschwindigkeit eine Ionisierung fein verteilt auf die Haut aufgetragenen Kupfers stattfindet.

Nach mechanischer Enthaarung der Rückenhaut von 10 lebenden Albinoratten wurde Kupferpulver an mehreren Stellen aufgetragen, und etwas einmassiert. Sofort nach dem Auftragen sowie 15 und 45 min danach, Durchführung des Akroreaktionstestes nach ADJUTANTIS und SKALOS. Bereits die sofort nach dem Auftragen des Kupfers durchgeführte Reaktion war stark positiv, die nach 15 min durchgeführte extrem. Die Auswertung dieses Ergebnisses wird jedoch dadurch erschwert, als bei dieser 6%ige Salpetersäure benutzt wird. Wir mußten daran denken, daß die starke Ionisation des Kupfers auf die Anwesenheit der Säure zurückzuführen ist.

In einem weiteren Versuch verzichteten wir auf die Einwirkung der verdünnten Salpetersäurelösung und tropften statt dessen doppelt destilliertes Wasser auf. Die Durchführung des übrigen Teiles des Akroreaktionstestes erfolgte in üblicher Weise. Die Versuchsanordnung entsprach im übrigen dem vorherigen Versuch.

Die Versuche ergaben: Die sofort nach dem Auftragen des Kupferpulvers durchgeführte Reaktion ließ kein ionisiertes Kupfer nachweisen, nach 15 min war nur wenig und nach 45 min eine mittlere Menge Kupfer nachweisbar (Abb. 1).

Zur Prüfung der Frage, ob und mit welcher Geschwindigkeit in die Tiefe des Haut-Unterhautgewebes eingebrachtes elementares Kupfer

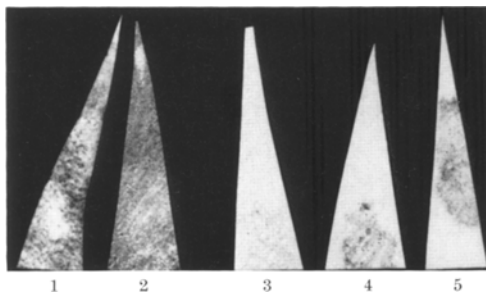


Abb. 1. Streifen 1: Akroreaktionstest nach ADJUTANTIS und SKALOS sofort nach dem Auftragen des Kupfers. Streifen 2 15 min nach dem Auftragen des Kupferstaubs durchgeführt. Streifen 3, 4 und 5. Ohne Salpetersäure durchgeführter (modifizierter) Akroreaktionstest; 3 sofort, 4 und 5 15 bzw. 45 min nach dem Auftragen des Kupferstaubs durchgeführt

in die ionisierte Form übergeht, wurde bei jeweils 5 narkotisierten Ratten je 0,5 g Kupferpulver unter die Rückenhaut implantiert. Tötung der Tiere a) sofort, b) 15 min, c) 45 min, d) 90 min nach der Implantation. Anfertigung von Gefrierschnitten der betreffenden excidierten Gewebsbezirke, Darstellung des ionisierten Kupfers mittels der Rubeanwasserstoffreaktion durch Einstellen der auf Objektträger aufgezogenen Schnitte in die 0,1%ige alkoholische Lösung von Rubeanwasserstoff, jedoch keine Nachbehandlung für 24 Std (wie bei PEARSE), um eine nachträgliche Ionisierung zu vermeiden. Sofortiges Entwässern und Eindecken.

Wir erhielten folgendes Ergebnis: Sofort nach der Implantation ist im Gewebe noch kein Kupfer nachweisbar, eine Spur findet sich bereits nach 15 min, eine mittlere Menge nach 45 min, eine erhebliche Menge nach 90 min (Abb. 2, 3, 4).

Bisher hatten wir mit lebenden Ratten experimentiert. Um zu sehen, ob es sich bei dem beschriebenen Vorgang um eine vitale Reaktion handelt, benutzten wir nun tote Ratten, und zwar 1, 2, 3, 4 und 5 Tage

nach dem Todeseintritt. Es ergab sich in jedem dieser Fälle eine Ionisation, wir hatten sogar den Eindruck, als ob die stärkste Reaktion 5 Tage nach dem Tod auftritt. Es zeigte sich somit, daß der Ionisations-



Abb. 2—4. Implantation von Kupferstaub in das Hautgewebe von Albinoratten, Abb. 2 nach 15 min, Abb. 3 nach 45 min, Abb. 4 nach 90 min. Man erkennt eine zunehmende Ionisation des Kupfers und eine Diffusion in das Gewebe

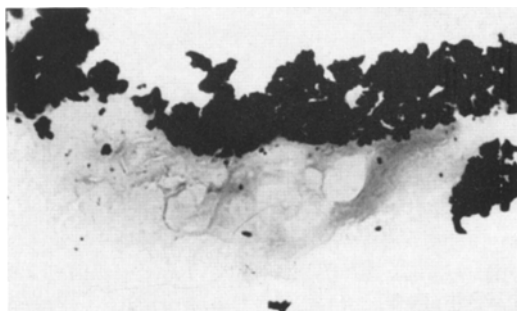


Abb. 3

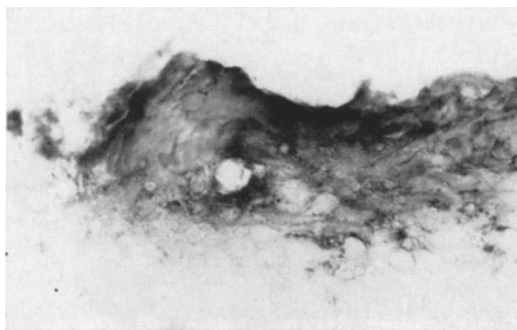


Abb. 4

prozeß von Kupfer im Hautgewebe der Ratte nicht an die Gewebsvitalität gefunden ist, vielmehr im faulen Gewebe sogar schneller bzw. stärker verläuft. Bei der Beurteilung histochemischer Schnittbilder der

Menschenhaut muß wohl mit ähnlichen Verhältnissen gerechnet werden (s. unten) (Abb. 5).

Die Lokalisation bzw. Verteilung von Kupfer im Bereich elektrischer Metallisationen wurde ebenfalls an der Haut toter Ratten untersucht. Zunächst an der mechanisch enthaarten, noch gering feuchten Haut, durch einfaches Auflegen von 1×1 cm großen Kupferblechelektroden. Diese wurden der Haut etwas angedrückt. Die Stromfließzeit lag im Bereich von 1—2 sec, die Spannung bei 220 Volt Wechselstrom.

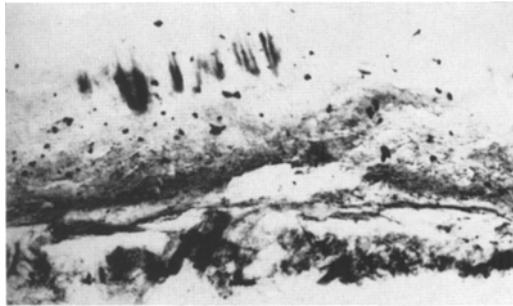


Abb. 5. Implantation von Kupferstaub unter die Rattenhaut, 5 Tage nach dem Töten des Tieres: Diffusion des ionisierten Kupfers aus der Subcutis bis in die Haarschäfte

Zum Vergleich lief eine Versuchsserie mit der von SCHRADER angegebenen Technik, wobei die Haut zur Verbesserung der Leitfähigkeit mit Ringerlösung befeuchtet wird. Die übrigen Versuchsbedingungen waren gleich. Neben der allseits bekannten Oberflächenmetallisation, die bei beiden Versuchsanordnungen gleich war, fand sich im ersten Versuch kein wesentliches Eindringen der Metallisation in die Gewebs-tiefe. Nach Auftragen von Ringerlösung dagegen waren mehrfach in der Umgebung der Haare, entlang der Haarschäfte Spuren ionisierten Kupfers nachweisbar.

Für diesen Unterschied in den Befunden ist eine Erklärung durch Diffusion naheliegend, wobei allerdings noch eine gewisse Gewebsaffinität zu ional gelöstem Kupfer in der Umgebung der Haarschäfte vorliegen müßte.

Bereits in den histologischen Präparaten der Implantationsversuche fällt eine außerordentliche Unterschiedlichkeit der Farbtintensität in den verschiedenen Gewebsanteilen nach Durchführung der Rubeanwasserstoffreaktion auf. Die stärkste Reaktion zeigte die Muskulatur, die geringste das Fettgewebe, mittlere Werte liegen bei Drüsen und Bindegewebe vor. Gut dargestellt wird auch das Entzündungsgewebe. Dort findet sich ionisiertes Kupfer im Exsudat, in den Entzündungszellen, besonders in deren Kernen, während das Plasma deutlich schwächer

dargestellt ist. Auch die Kerne der Bindegewebszellen des Granulationsgewebes werden intensiv dargestellt.

In einem Vorversuch wurde dann zunächst die Frage der Gewebsaffinität nochmals überprüft. Es wurde eine Schnittserie von unbehandelter Rattenhaut nach Aufziehung der Gefrierschnitte auf Objektträger in eine 0,1%ige Kupfersulfatlösung eingestellt, die Schnitte wurden 30 min in der Lösung stehen gelassen und dann 30 min gewässert. Danach erfolgte Einstellung in Rubeanwasserstoffsäure und Weiter-

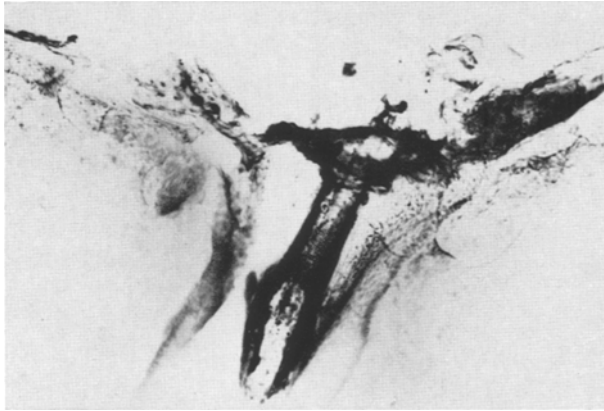


Abb. 6. Metallisation im oberflächlichen Haarschaftbereich nach Auftropfen einer heißen 0,1%igen Kupfersulfatlösung auf Leichenhaut: Kein wesentlicher Unterschied zur elektrischen Metallisation

verarbeitung in der beschriebenen Weise. Die Anfärbungsintensität der Gewebsstrukturen stimmte in allen Einzelheiten mit denen der normalen Gewebsstruktur in der Nähe der Implantationsorte überein.

Während schon bei den Implantationsversuchen die völlige Gleichartigkeit der Kupferverteilung im Gewebe bei vitaler und postmortaler Freisetzung der Kupferionen auffiel, erscheint es nun auch nicht verwunderlich, daß sofort nach dem Töten des Tieres hergestellte Gefrierschnitte nach Imprägnierung mit Kupfersulfatlösung die gleiche Verteilung des Kupfers im Gewebe erkennen lassen wie solche, die 5 Tage nach dem Tod des Tieres angefertigt und in gleicher Weise weiterbehandelt wurden.

Zur Sicherung unserer Diffusionstheorie für die Entstehung tiefer Metallisationen nach Stromeinwirkung auf die Haut wurde folgender Versuch durchgeführt: Auf die mechanisch enthaarte, mit 70%igem Alkohol abgewaschene und wieder abgetrocknete tote Rattenhaut wurde ein Tropfen einer 1%igen kochend heißen Kupfersulfatlösung aufgetragen. Die Stelle der Auftragung wurde markiert und in üblicher Weise nach Gefrierschneiden histochemisch untersucht. Es wurden mit der tiefen Metallisation völlig identische Befunde erhoben (Abb. 6).

Gleichartige Ergebnisse in bezug auf die Tiefen-Metallisation erzielten wir auch mit gleicher Methodik bei Verwendung menschlicher Leichenhaut.

Von der Dermatologie her ist allgemein die Anwendung der sog. „feuchten Kammer“ bekannt. Man versteht darunter einen luftdichten

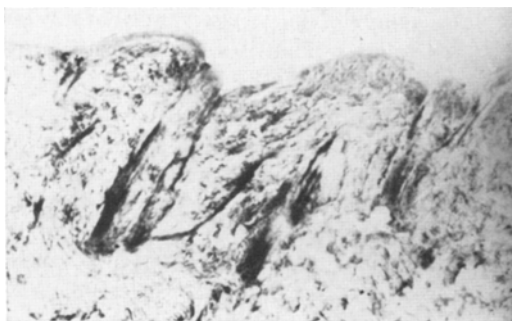


Abb. 7. Auf die lebende Rattenhaut aufgetragener Kupferstaub diffundiert unter den Bedingungen der feuchten Kammer entlang der Haarschäfte in die Gewebstiefe

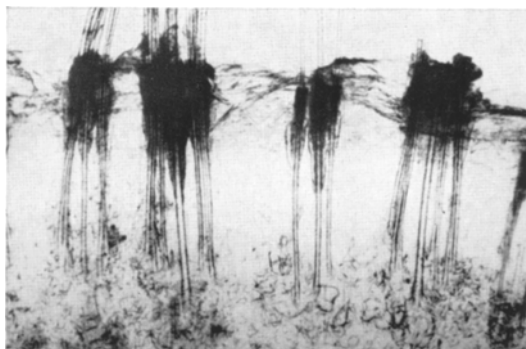


Abb. 8. Eine Verreibung von Kupferstaub mit Metallreinigungspaste auf die Haut aufgetragen, Einwirkung einer feuchten Kammer: Intensive Metallisation im Haarschaftbereich

Abschluß einer Hautpartie vorwiegend mittels Plastikfolien. Die sich entwickelnde Hautfeuchtigkeit begünstigt das Eindringen aufgetragener Medikamente. Es ist naheliegend, daß auch die sehr kleinen Kupferionen unter den Bedingungen der „feuchten Kammer“ in erheblichem Umfange in das Hautgewebe diffundieren können und so u. U. zur Fehlbeurteilung einer Metallisation führen können. In der Praxis ist mit dem Vorkommen von Bedingungen, die der feuchten Kammer entsprechen, vor allem im Schuhwerk, unter einem Verband und im Bereich von Schmuckstücken, Uhrarmbändern und dergleichen zu rechnen. Um

diese Möglichkeit zu prüfen, wurde auf die rasierte vitale Rattenhaut aufgetragen:

1. ein Brei von Kupferpulver und destilliertem Wasser,
2. eine Verreibung (Porzellanschale) von Kupferpulver mit einem pastenförmigen Kupfer-Metallreinigungsmittel (Metaplast 1+1).

Über diese Bezirke wurde eine Plastikfolie aufgelegt, die an den Rändern mit Leukoplast befestigt wurde. Nach 8 Tagen wurden die Ratten getötet. Die Aufarbeitung der excidierten Hautstückchen erfolgte in der beschriebenen Weise. In der unter 1. aufgeführten Haut

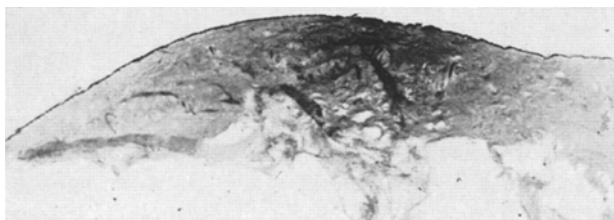


Abb. 9. Auf die unversehrte Oberfläche der Leichenhaut aufgelegter Kupfersulfatkristall:
Tiefes Eindringen der Metallisation

fand sich nur andeutungsweise ionisiertes Kupfer entlang der Haarschäfte. Bei den nach 2. behandelten Hautpräparaten waren die Kupferansammlungen dagegen ausgesprochen intensiv (Abb. 7, 8).

Als abschließenden Versuch legten wir auf die unvorbereitete Leichenhaut einen glasstecknadelkopfgroßen Kupfersulfatkristall, tropften mit der Pipette etwas destilliertes Wasser auf und fertigten einen Plastikfolienverband — wie oben beschrieben — an. Nach 24stündigem Liegen bei Zimmertemperatur erfolgte die histochemische Aufarbeitung der Schnittpräparate: Intensive Kupferreaktionen bis in eine Gewebstiefe von 8 mm! (Abb. 9.)

Zu diskutieren wäre noch, weshalb sich ein verhältnismäßig edles Metall wie Kupfer überhaupt so leicht löst. Aus der Chemie ist bekannt, daß metallisches Kupfer lediglich durch rauchende Salpetersäure unmittelbar in Ionen übergeführt wird. Bei der Metallisation muß sich also ein besonderer Vorgang abspielen. Einen Beitrag zu diesem Problem vermag die Elektrochemie zu liefern. Nach KORTÜM läßt sich jegliche Art von Metallauflösung durch die Betätigung sogenannter „Lokalelemente“ deuten. Darunter versteht man lokale Potentialdifferenzen an Metalloberflächen. Diese bilden sich aus, wenn neben dem Metall auch Metalloxyd an der Phasengrenzfläche zu einer wäßrigen Lösung vorhanden sind. Das Metall geht dabei anodisch in Lösung. So erklärt sich auch die Abhängigkeit der Kupferionisation von der Metalloberfläche

zwanglos, ergibt doch eine größere Oberfläche auch einen größeren Platz für die Entwicklung solcher Lokalelemente.

Zusammenfassung

1. Auf die Haut lebender Versuchstiere aufgetragener Kupferstaub zeigt sofort nach dem Auftragen keine Ionisierung, dagegen bereits nach einer Viertelstunde.

2. In das Haut-Unterhautgewebe lebender Versuchstiere implantierter Kupferstaub zeigt ebenfalls zunächst keine Ionisierung, bereits nach einer Viertelstunde findet man dagegen ionisiertes Kupfer im Gewebe.

3. Die Ionisierung elementaren Kupfers im Gewebe ist kein an die Vitalität gebundener Vorgang.

4. Die Ionisation von Kupfer im Gewebe ist von der Metalloberfläche abhängig, es handelt sich beim Übergang von der elementaren in die ionisierte Form wahrscheinlich um einen elektrochemischen Prozeß.

Die verschiedenen Gewebsanteile der Haut besitzen ein unterschiedliches Bindungsvermögen für Kupferionen, und zwar sowohl im vitalen Gewebe als auch postmortal ähnlich einem chemischen Absorptionvorgang. Maximale Affinität besitzt dabei die Muskulatur, minimale das Fettgewebe. Mittlere Werte weisen Bindegewebe und Drüsenstrukturen auf.

6. Qualitative histochemische Unterschiede zwischen zufälliger und elektrischer Metallisation lassen sich bezüglich der Lokalisation von Kupferionen nicht nachweisen.

7. Kupferionen vermögen unter den Bedingungen der feuchten Kammer die völlig intakte Rattenhaut zu durchdringen, und zwar unter postmortalen und vitalen Bedingungen.

8. Kupferionen diffundieren unter den Bedingungen der feuchten Kammer auch durch die intakte menschliche Leichenhaut. Auf diese Weise könnte auch bei intakter Leichenhaut postmortal eine tiefgelegene Metallisation zustande kommen.

Summary

1. Copper dust shows no ionisation immediately after being applied to the skin of living test animals rather after 15 minutes.

2. Copper dust implanted into the tissue under the skin of living animals shows likewise no ionisation immediately thereafter. After a quarter of an hour one finds ionised copper in the tissue.

3. The ionisation of elementary copper in tissue is not dependent on vitality.

4. Ionisation of copper in tissue is dependent on the surface of the metal. There is probably an electrochemical reaction involved in the change from the elementary to the ionised form.

5. The various tissue components of the skin possess different powers of combination with copper in living and dead tissue. This is similar to a chemical absorption process. Maximal affinity is found in muscle, minimal in fatty tissue. Glandular structures and connected tissue show moderate affinity.

6. Qualitative histochemical differences between chance and electrical metallisation are not to be determined with respect to the localisation of copper ions.

7. Copper ions are able to penetrate under the conditions of the moisture chamber, completely intact rat skin. This was found to be true under both living and post mortal conditions.

8. Copper ions diffuse, under the conditions of the moisture chamber, through intact skin of human corpses. In this fashion, a deep-lying metallisation could occur in intact skin of the corpse (post mortal).

Literatur

- ADJUTANTIS, G., and G. SKALOS: The identification of the electrical burn. *J. forens. Med.* **9**, 101 (1962).
- FEIGL, F.: Tüpfelanalyse, Bd. I, Anorganischer Teil! Frankfurt a. M., Akad. Verlagsgesellschaft mbH 1960.
- KORTÜM, G.: Lehrbuch der Elektrochemie, S. 530. Weinheim a. d. Bergstr.: Verlag Chemie 1957.
- MODABER, P.: Über die Metallisation, insbesondere über das Verhalten des Eisens nach elektrischem Strom. *Med. Diss. Heidelberg* 1965.
- PEARSE, E.: *Histochemistry; theoretical and applied*, second edit. London: Churchill Ltd. 1961.
- ROMELS, B.: Taschenbuch der mikroskopischen Technik, S 1205. München u. Berlin: R. Oldenburg 1943.
- SCHÄFFNER, M.: Untersuchungen über Histologie und Metallisation nach elektrischen Einwirkungen auf die Haut. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **56**, 270 (1965).
- SCHRADER, G.: Experimentelle Untersuchungen zur Histopathologie elektrischer Hautschädigungen durch niedergespannten Gleich- und Wechselstrom. Jena: Gustav Fischer 1932.
- SCHRIDDE, H.: Der elektrische Stromtod. *Pathologisch-anatomische Untersuchungen. Klin. Wschr.* **1925**, 2142.

Dr. med. EKKEHARDT BÖHM

Institut für gerichtliche Medizin der Universität
Heidelberg. Voßstr. 2