

Besonderheiten der Fibrinbildung in Schnittwunden der Haut, festgestellt durch Rasterelektronenmikroskopie

Iwan Lasarov

Lehrstuhl für Gerichtsmedizin am Medizinischen Hochschulinstitut in Varna,
Marin Drinovstr. 55, 9002 Varna, Bulgarien

Characteristics of Fibrin Formation in Skin Cut Wounds, Established Through Scanning Electron Microscopy

Summary. In an investigation on fibrin formation in skin cut wounds on guinea pigs using scanning electron microscopy, it was established that immediately after the infliction of cuts on live animals, a fine, netlike fiber structure of fibrin forms that gradually covers the entire wounded surface. In the period early after the cuts blood-forming elements attach to the fibrin net through numerous fine fibrin fibers, which incorporate a great number of thrombocytes. Postmortem investigations of these wounds showed that the fibrin net formed preserves its structure. It was also established that a fibrin net forms over skin wounds that were inflicted at different periods after death. In the wounds in the early periods after death, the fibrin net formed was very similar to the one established on wounds inflicted on living animals. Our investigation describes some peculiar characteristics of the fibrin net formed in living animals; there is a fine fiberlike net and the quantity is definitely larger. These characteristics permit the establishment of whether the wounds occurred before death and how much time has lapsed since then.

Key words: Skin cut wounds, fibrin filaments – Vital reactions

Zusammenfassung. Untersucht wurde die Fibrinbildung in Schnittwunden der Haut von Meerschweinchen durch Rasterelektronenmikroskopie. Es wurde festgestellt, daß sich unmittelbar nach der Verletzung zu Lebzeiten eine feine, faden- und netzförmige Fibrinstruktur ausbildet, die allmählich die ganze Wundfläche wie ein Schleier überzieht. Anfangs sind die geformten Blutelemente frei innerhalb des sich bildenden Fibrinnetzes gelagert. In den folgenden frühen Zeitabschnitten nach der Verletzung sind die geformten Blutelemente mit dem Fibrinnetz durch eine Vielzahl zarter, dünner Fi-

brinfäden verbunden, in die auch reichlich Thrombozyten eingeschlossen sind. Bei den zu Lebzeiten gesetzten Wunden, die nach dem Tode untersucht wurden, bewahrt das gebildete Fibrinnetz seine Struktur. Konstatiert wurde ferner, daß auch bei den Hautverletzungen, die zu unterschiedlichen Zeiten nach Eintritt des Todes gesetzt wurden, sich ein Netz aus Fibrin bildet. In den Wunden, die in den ersten Stunden nach dem Tode zugefügt wurden, ist das sich ausbildende Fibrinnetz dem sehr ähnlich, das bei den zu Lebzeiten gesetzten Wunden zu beobachten ist. Bei der durchgeführten Untersuchung stellten wir die Besonderheiten fest, die das sich zu Lebzeiten ausbildende Fibrinnetz auszeichnet – seine feine, faden- und netzähnliche, schleierartige Struktur mit bedeutend grösserer quantitativer Ausbildung. Diese Besonderheiten ermöglichen uns die Feststellung, ob die Wunde zu Lebzeiten zugefügt wurde und wieviel Zeit seitdem vergangen ist.

Schlüsselwörter: Schnittwunden der Haut, Fibrinbildung zu Lebzeiten und nach dem Tode – Wundalterbestimmung

Die Schwierigkeit und die wesentliche Bedeutung der Fragen, die in der kriminalistischen Praxis aufgetreten sind, erklären das ununterbrochene Bestreben, durch gerichtsmedizinische Untersuchungen mehr und überzeugendere Beweise dafür zu finden, daß die Wunden – einschließlich der Haut – zu Lebzeiten zugefügt wurden, sowie noch differenziertere und genauere Argumente über die verflossene Zeit vom Moment der Verletzung an. Mit Recht wurde von vielen Autoren unterstrichen (Clarke und Salisbury 1967; Somogyi und Sotonyi 1977; Sugimura 1973; Böhm 1971a,b, 1972), daß die Elektronenmikroskopie – besonders die skanierende (SEM) – eine Methode mit Perspektive und breiten Anwendungsmöglichkeiten in der gerichtsmedizinischen Praxis ist. Die Resultate der Untersuchungen haben die Erwartungen bestätigt. Von besonderem Interesse in dieser Hinsicht sind die Untersuchungen von E. Böhm und seinen Mitarbeitern (Böhm 1974b; Böhm und Tschomakov 1972, 1973a, b; Böhm und Hochkirchen 1983; Böhm 1975) und von Schneider 1974. In den Erscheinungen der folgerichtigen Entwicklung der Hämoagglutinationsprozesse an der Wundoberfläche werden ziemlich zuverlässige Anzeichen dafür gefunden, daß die Haut zu Lebzeiten verletzt wurde. Indem sie die unikalen Möglichkeiten der SEM zur dreidimensionalen Darstellung der Untersuchungsobjekte ausnutzen, erzielten die zitierten Autoren überzeugende Beweise dafür, daß die Wunden zu Lebzeiten zugefügt wurden und zwar in aufeinanderfolgenden Etappen der Ausbildung des Fibrinnetzes mit Einbeziehung der verschiedenen Blutzellen. Die nachgewiesene reaktive Bedeckung der Wundoberfläche mit Elementen aus dem ausgetretenen Blut betrachtet Böhm (1974a) als lokale vitale Reaktion. Die sich entwickelnde lokale Hämostase betrachtet derselbe Autor prinzipiell nicht so sehr als vitales Anzeichen und Ausdruck einer Gewebsblutung, sondern als Erscheinung einer Vitalreaktion. Die sich bildende Fibrinstruktur wurde auch in letzter Zeit als sicherer Beweis dafür angesehen, daß die Wunde zu Lebzeiten zugefügt wurde (Khizhnyakova 1983). Das wurde auch bei unseren Untersuchungen an Erythrozyten aus der Wundoberfläche (Lasarov et al. 1984) festgestellt.

Wir untersuchten durch die SEM die Ausbildung der Fibrinstruktur an der Oberfläche von Schnittwunden nach der Verletzung, um zusätzliche informative Angaben dafür zu erhalten, daß die Verletzung zu Lebzeiten geschah und wieviel Zeit seitdem verging.

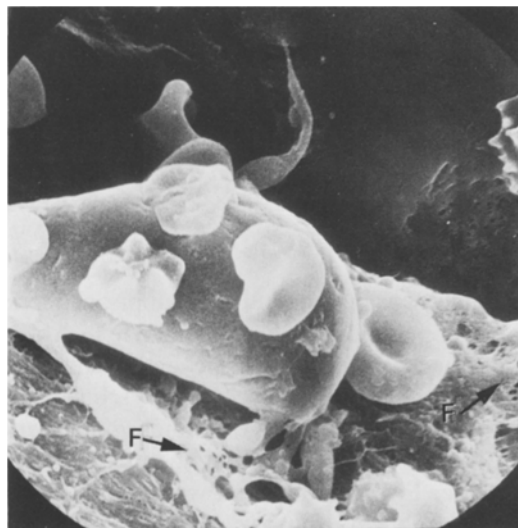
Material und Methoden

Nach vorherigem Kurzschneiden des Fells auf dem Rücken von Meerschweinchen in Halsnähe wurden mit einem scharfen Gegenstand 25 mm lange Schnittwunden gesetzt. Der Schnitt ging durch alle Schichten der Haut und Unterhaut bis auf die Faszien der darunterliegenden Muskelgruppen. In Serien zu je 5 Meerschweinchen wurden diese auf scharfe Art und Weise unmittelbar nach der Verletzung, in der 30. und 60. Minute und in der 4., 8. und 24. Stunde nach der Verletzung getötet. Unmittelbar nach der Tötung, aber auch in der ersten, zweiten, 4., 8. und 24. Stunde nach der Tötung wurden von der Wundfläche Hautstückchen in der Größe von 8/4 mm entnommen. In einer besonderen Serie wurden je 5 Meerschweinchen durch mechanische Asphyxie (Erwürgen) getötet und danach in der ersten, zweiten, 4., 8. und 24. Stunde mit einem scharfen Gegenstand Schnittwunden auf einem enthaarten Teil des Rückens angebracht. Unmittelbar nach der Verletzung wurden der Wundoberfläche Gewebstückchen von obengenannten Ausmaßen entnommen. Diese Hautstückchen wurden für 24 Std. in einer 3%igen Glutaraldehydlösung und einem Phosphatpuffer mit dem pH=7,2 fixiert. Nach der Fixierung wurden die Hautstückchen mehrmals für 15 Min. in dem Phosphatpuffer gespült, wonach sie in einer aufsteigenden Serie von Alkohollösungen entwässert wurden. Die endgültige Dehydratisierung geschah dann im „Critical point Drying“-Apparat. Die Objekte wurden durch Hochvakuumzerstäubung mit Gold bedeckt. Die Untersuchung erfolgte durch ein japanisches skanierendes Elektronenmikroskop JEOL JSM³⁵, mit beschleunigender Spannung von 25 kv.

Ergebnisse

An der Oberfläche von Schnittwunden der Haut von Meerschweinchen, die unmittelbar vor der Tötung der Tiere gesetzt worden waren und sofort danach un-

Abb. 1. Skanierendes Elektronogramm der Wundfläche auf der Haut eines Meerschweinchens. Die Wunde wurde mit einem scharfen Gegenstand unmittelbar vor der Tötung des Tieres und vor der Gewebsementnahme gesetzt. Es sind Erythrozyten mit bikonkaver und kupelartiger Form und solche mit fingerähnlichen Auswüchsen zu sehen. An einzelnen Stellen der Wundfläche ist ein neugebildetes feines, wie ein Schleier ausgebreitetes Fibrinnetz zu sehen



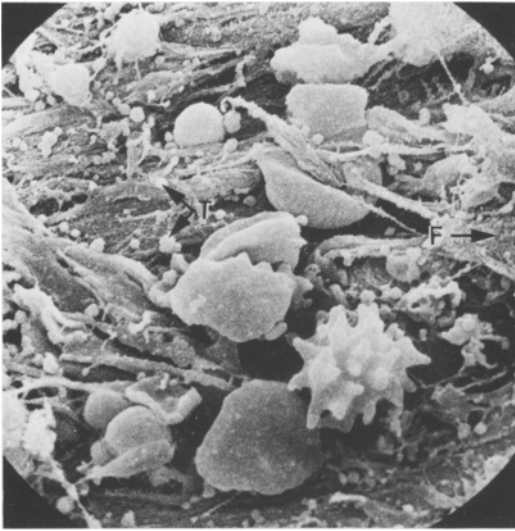


Abb. 2. Skanierendes Elektronogramm der Wundfläche auf der Haut eines Meerschweinchens. Die Wunde wurde mit einem scharfen Gegenstand 30 Min vor Tötung des Tieres und vor der Gewebsementnahme gesetzt. Es ist an allen Stellen ein fein gebautes Fibrinnetz zu sehen, darin eingeschlossen eine Vielzahl von Thrombozyten. Auffallend sind viele feine Fibrinfäden, die die Erythrozyten mit dem Fibrinnetz verbinden.

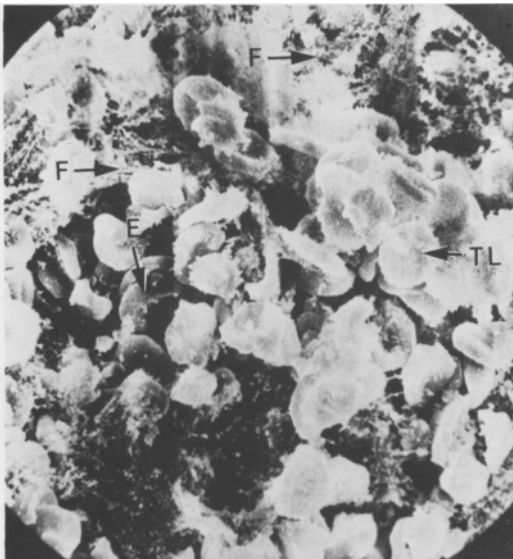


Abb. 3. Skanierendes Elektronogramm der Wundfläche auf der Haut eines Meerschweinchens. Die Wunde wurde mit einem scharfen Gegenstand 4 Std vor Tötung des Tieres und vor der Gewebsementnahme gesetzt. Es ist ein feines Fibrinnetz zu sehen, das die gesamte Wundoberfläche überzieht. Auf dem Fibrinnetz und mit ihm durch feine Fibrinfäden verbunden sieht man eine Vielzahl von Erythrozyten mit verschiedener Form, darunter einzelne T-Lymphozyten.

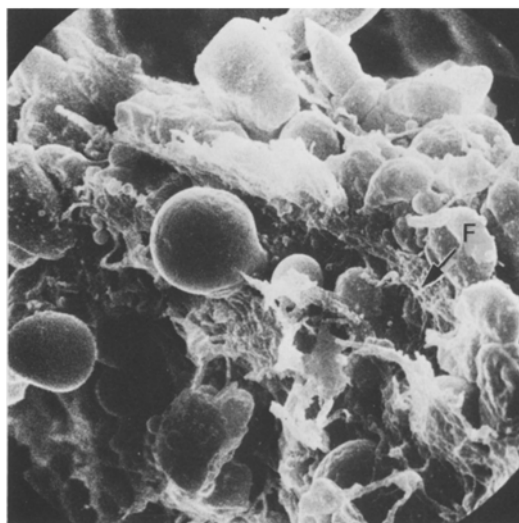
tersucht wurden, stellten wir hauptsächlich Erythrozyten mit bikonkaver, seitenr kuppelähnlicher Form fest. Wie in Abb. 1 zu sehen ist, finden sich auf ihrer Oberfläche keinerlei Anzeichen für eine beginnende Fibrinbildung. Nur in einzelnen Abschnitten der Gewebsschnittfläche ist ein feines, zartes, wie ein Schleier ausgebreitetes Fibrinnetz zu bemerken.

Auf der Oberfläche von Schnittwunden, die 30 Min vor Abtötung der Tiere und der Entnahme gesetzt worden waren, fand sich ein überall ausgebreitetes, fein gebautes Fibrinnetz. Wie in Abb. 2 zu sehen ist, befinden sich darin Ery-

Abb. 4. Skanierendes Elektronogramm der Wundfläche auf der Haut eines Meerschweinchens. Die Wunde wurde mit einem scharfen Gegenstand 8 Std vor Tötung des Tieres und vor der Gewebsementnahme gesetzt. Es sind Kollagenstränge, feine Fibrinfäden und darin eingeschlossene Erythrozyten und T-Lymphozyten zu sehen. Auf der Oberfläche eines bikonkaven Erythrozyten befinden sich Thrombozyten.



Abb. 5. Skanierendes Elektronogramm der Wundfläche auf der Haut eines Meerschweinchens. Die Wunde wurde mit einem scharfen Gegenstand 30 Min vor Tötung des Tieres gesetzt und das Gewebe 2 Stunden nach Eintritt des Todes entnommen. Es findet sich ein gut ausgebildetes feines Fibrinnetz, wobei einzelne Fibrinfäden Erythrozyten und T-Lymphozyten verbinden. Im Fibrinnetz sind Thrombozyten eingeschlossen.



throzyten mit bikonkaver und kuppelähnlicher Form. Es sind auch einzelne T-Lymphozyten mit ihrer typischen glatten Oberfläche anzutreffen. Auffallend sind feine Fibrinfäden, durch die die einzelnen Erythrozyten und Lymphozyten mit dem Fibrinnetz verbunden sind, das die Wundfläche überzieht. Auf den Erythrozyten und Lymphozyten, und auch in dem entstandenen Fibrinnetz befinden sich viele Thrombozyten.

In den untersuchten Hautverletzungen mit größerer Zeitdauer zu Lebzeiten sind wesentlich mehr Lymphozyten und Leukozyten zu finden. In Abb. 3 ist die Oberfläche einer Schnittwunde dargestellt, die 4 Std vor Tötung des Meer-

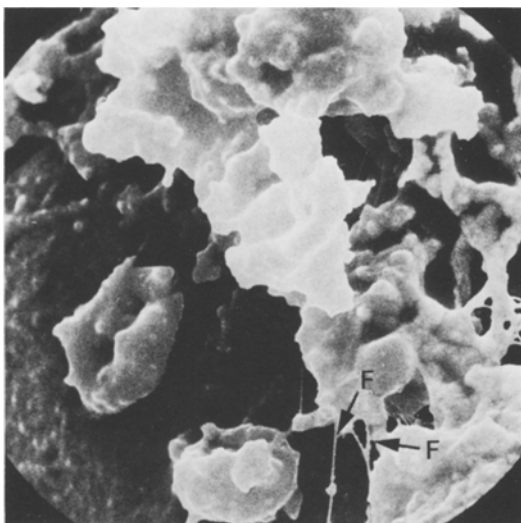


Abb. 6. Skanierendes Elektronogramm der Wundfläche auf der Haut eines Meerschweinchens. Die Wunde wurde mit einem scharfen Gegenstand 2 Stunden nach Eintritt des Todes durch mechanische Asphyxie gesetzt. Es finden sich große, lappenförmige Bildungen, höchstwahrscheinlich Eiweißmaterie, die Erythrozyten mit bikonkaver Form bedeckt. Gut zu sehen ist das Fibrinnetz mit feiner, stellenweise größerer fadenförmiger Struktur und eingeschlossenen Thrombozyten.



Abb. 7. Skanierendes Elektronogramm der Wundfläche auf der Haut eines Meerschweinchens. Die Wunde wurde mit einem scharfen Gegenstand 4 Stunden nach Eintritt des Todes durch mechanische Asphyxie gesetzt. Gut zu sehen ist der Aufbau des Fibrinnetzes aus feinen Fäden, die die kollagenen Strukturen überziehen bis hin zu einem sphärischen Erythrozyten.

schweinchens gesetzt worden war. Die meisten Blutzellen befinden sich in einem feinen Fibrinnetz, das in der Struktur dem gleich ist, das bei Wunden mit kürzerer Zeitdauer zu Lebzeiten vorhanden ist. Bei Verletzungen mit größerem Zeitraum zu Lebzeiten stellt sich die Struktur des Fibrinnetzes durch fadenförmige Stränge zwischen den Kollagenbildungen und Blutzellen dar. Das ist in Abb. 4 gut zu sehen, bei der die Wundfläche der Haut von 8 Std Zeitdauer zu Lebzeiten aufgenommen wurde.

Die charakteristischen Eigenschaften der Struktur des Fibrinnetzes in den verschiedenen Perioden der Verletzungen zu Lebzeiten bleiben auch bei den

Abb. 8. Skanierendes Elektronogramm der Wundfläche auf der Haut eines Meerschweinchens. Die Wunde wurde mit einem scharfen Gegenstand 18 Stunden nach Eintritt des Todes durch mechanische Asphyxie gesetzt. Zu sehen ist die Oberfläche des zerschnittenen Gewebes mit einem darauf ausgebreiteten spärlichen Netz aus fadenförmigen Fibrinsträngen. Auffällig sind Erythrozyten und T-Lymphozyten ohne Fibrinauflagerungen auf ihrer Oberfläche.

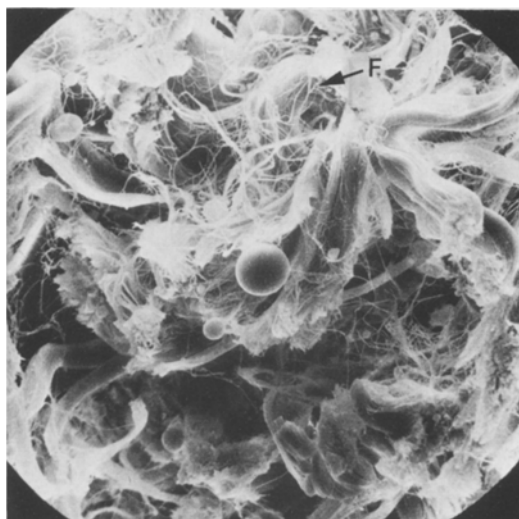


Abb. 9. Skanierendes Elektronogramm der Wundfläche auf der Haut eines Meerschweinchens. Die Wunde wurde mit einem scharfen Gegenstand 24 Stunden nach Eintritt des Todes durch mechanische Asphyxie gesetzt. Zu sehen ist die Oberfläche des zerschnittenen Gewebes mit einzelnen Fibrinsträngen und Blutzellen, frei von Fibrinauflagerungen.



Beobachtungen in den folgenden Stunden nach Tötung des Tieres bestehen. Wie aus Abb. 5 ersichtlich ist, ist das feine Fibrinnetz, das wie ein Schleier zwischen den Blutzellen ausgebreitet liegt, gut auf der Wundoberfläche bei 30 Min Dauer zu Lebzeiten, zwei Stunden nach Tötung des Tieres aufgenommen, zu sehen.

Auf der Oberfläche von Hautverletzungen, die nach der Tötung der Meerschweinchen durch mechanische Asphyxie gesetzt wurden, werden Fibrinbildungen beobachtet, die zwischen den Blutzellen ausgebreitet sind. Bei Verletzungen, die noch in den ersten Stunden nach dem Tode angebracht wurden, hat

das Fibrinnetz eine feine, und an manchen Stellen gröbere fadenförmige Struktur, in der Erythrozyten und Thrombozyten eingeschlossen sind (Abb. 6, 7). Auf der Oberfläche von Verletzungen, die gegen Ende der nächsten 24 Std nach Tötung der Tiere gesetzt worden sind, bemerkt man, wenn auch spärlich, fadenförmige Fibrinbildungen (Abb. 8, 9). Die selten anzutreffenden Blutzellen haben eine freie Oberfläche.

Diskussion

Bei der vorliegenden Untersuchung wird hauptsächlich der Aufeinanderfolge und den Strukturbesonderheiten in den einzelnen Phasen der Fibrinbildung als einer der wesentlichen Reaktionserscheinungen des Organismus auf die gesetzte Hautverletzung Beachtung geschenkt. Die morphologische Struktur, die in der Anfangsphase der Fibrinbildung beobachtet wird und die ein zartes Fibrinnetz darstellt, das wie ein Schleier die Wundfläche überzieht, gestattet die Schlußfolgerung, daß diese Verletzung zu Lebzeiten gesetzt wurde. Die Feststellung eines solchen feinen Fibrinnetzes an nur einzelnen begrenzten Abschnitten der Schnittfläche der Haut zeigt ihrerseits an, daß diese Verletzung von ganz kurzer Zeitdauer ist, d. h. kurz vor Eintritt des Todes zugefügt wurde. Wie Böhm (1974a) bemerkt, können wir in diesen Anfangerscheinungen der Ausbildung eines feinen Fibrinnetzes als Ausdruck einer Vitalreaktion eine Anfangsorientierung bei der Bestimmung des Charakters der konkreten Verletzung, d. h. ob sie zu Lebzeiten zugefügt wurde, finden.

Und wirklich, in dieser Hinsicht muß auch die Meinung von Schneider (1974) berücksichtigt werden, daß die Faktoren, die an der Gerinnung beteiligt sind, auch nach dem Tode noch wirksam sind. Wie er bemerkte, und ebenso Bayerle et al. 1949, 1950, Harms 1972, Vogel 1926, ist eine Spontangerinnung von Leichenblut außerhalb des Gefäßsystems manchmal noch Stunden danach möglich. Wie sich auch in vorliegender Untersuchung zeigte, sind Fibrinbildungserscheinungen auch nach dem Tode festzustellen, und das bei ziemlich spät gesetzten Hautverletzungen. Gleichzeitig jedoch wird bei dieser Untersuchung festgestellt, daß die bei den nach dem Tode zugefügten Verletzungen beobachteten fadenförmigen Fibrinstränge sich in beträchtlichem Grade von dem feinen Bau des Fibrinnetzes unterscheiden, das bei Hautverletzungen zu Lebzeiten in weit größerem Ausmaß vorhanden ist.

Und doch zeigen die Resultate unserer Untersuchungen, daß trotz ihrer unterschiedlichen Struktur die Fibrinbildungen in den nach dem Tode gesetzten Hautwunden und besonders das Vorhandensein von geformten Elementen des Blutes an der Oberfläche dieser Wunden Schwierigkeiten bei der Genauigkeit der Beurteilung darüber, ob die Wunden vor oder nach dem Tode zugefügt wurden, bereiten. Besonders bei Verletzungen, die in den ersten Stunden nach dem Tode gesetzt wurden, ist das Bild dem sehr ähnlich, das bei zu Lebzeiten zugefügten Wunden zu beobachten ist. Auch hier findet man Blutzellen, vorwiegend Erythrozyten, die eine gute erhaltene Oberfläche haben. Zu bemerken ist, wie wir schon betonten, auch ein ausgebildetes Fibrinnetz. Hier jedoch müs-

sen die beobachteten und allmählich in ihrer Ausgeprägtheit zunehmenden Strukturbesonderheiten dieses sich nach dem Tode ausbildenden Fibrinnetzes berücksichtigt werden. Wie in der vorliegenden Untersuchung festgestellt wird, können wir, obwohl unveränderte Blutzellen auf der Wundoberfläche vorhanden sind, deren Anwesenheit zusammen mit den Anzeichen einer Fibrinbildung nicht mit Sicherheit als Ausdruck einer lokalen Vitalreaktion betrachten. Die Beobachtungen bestätigen die Schlußfolgerung, daß ein Bild die Merkmale einer Vitalreaktion nur dann aufweisen könnte, wenn die Elemente des austretenden Blutes im Überfluß zu finden sind und beim Vorhandensein eines feinen Fibrinnetzes mit seiner charakteristischen Struktur, wie es bei unseren Untersuchungen bei den zu Lebzeiten gesetzten Verletzungen gefunden wurde. Diese Feststellung wird durch das Bild unterstützt, das bei Verletzungen beobachtet wird, die in den späteren Stunden nach Eintritt des Todes zugefügt wurden. Darin ist eine allmähliche Verminderung der Anzahl der geformten Blutelemente zu bemerken und die Strukturbesonderheiten und die quantitative Ausprägung der Fibrinbildung sind noch besser zu sehen.

Die hier ausgeführten Beobachtungen über einige Strukturbesonderheiten bei der Fibrinbildung befinden sich zusammen mit vielen anderen Bedingungen in Abhängigkeit von der Lebendigkeit des Organismus und von der verflossenen Zeit von der Verletzung bis zum Moment der Untersuchung. Mit diesen Eigenschaften liefert uns die Fibrinbildung wesentliche Informationsangaben sowohl darüber, ob die Wunden zu Lebzeiten entstanden sind, als auch über die Zeitspanne, die seitdem vergangen ist.

Literatur

- Bayerl H, Marx R, Selhorst H (1949) Enzymologische Untersuchungen an Leichenblut. *Virchows Arch* [A]
- Bayerl H, Marx R, Selhorst H (1950) Enzymologische Untersuchungen an Leichenblut. *Virchows Arch* [A]
- Böhm E (1971a) Application of the SEM in forensic medicine. *Scan Electron Microsc*
- Böhm E (1971b) Die Anwendung des Rasterelektronenmikroskops in der Rechtsmedizin. *Beitr Gerichtl Med* 28: 121–135
- Böhm E (1972) Spezielle Entnahme-, Präparations- und Untersuchungstechniken für die Anwendung der Rasterelektronenmikroskopie in der forensischen Medizin. *Beitr Gerichtl Med* 29: 228–258
- Böhm E (1974a) Zur Ultrastruktur von Blutungen nach wiederholter Traumatisierung. *Z Rechtsmed* 74: 197–206
- Böhm E (1974b) Zur Faser- und Netzstruktur des Fibrins bei intravaskulärer Gerinnung. *Z Rechtsmed* 74: 217–223
- Böhm E (1975) Three-dimensional structure of wound surfaces. A contribution to the study of local vital reaction and the determination of the age of wounds. *Scan Electron Microsc Proc Annu SEM Symp, St Louis, Parts 1–3*: 571–576
- Böhm E, Hochkirchen K (1983) Zur Ultrastruktur vitaler, post-mortaler und autolyserter Gerinnsel. *Forensic Sci Int* 21: 117–127
- Böhm E, Tschomakov M (1972) Ein Sekundenphänomen der vitalen Reaktion, demonstriert an Stichverletzungen von Arterien. *Z Rechtsmed* 71: 235–242
- Böhm E, Tschomakov M (1973a) Ein Sekundenphänomen der vitalen Reaktion. *Beitr Gerichtl Med* 31: 221–229

- Böhm E, Tschomakov M (1973b) Frühe Merkmale einer vitalen Reaktion. Untersuchungen an Schnittverletzungen der Rattenhaut. *Z Rechtsmed* 72:111–118
- Clarke J, Salsbury A (1967) Surface ultramicroscopy of human blood cells. *Nature (London)* 215:402–404
- Harms D (1972) Über Thrombozytenzahl und Thrombozytenfunktion im Leichenblut. *Med Welt* 23:975–976
- Khizhnyakova KI (1983) Dynamics of pathomorphology of craniocerebral trauma. *Medicina*, Moscow (Russ)
- Lasarov I, Dimitrov M, Mechenov G, Tzankov Y (1984) Study of erythrocyte morphology in skin cut wounds by scanning electron microscopy. *Sudeb-med ekspert* 4:16–18 (Russ)
- Schneider V (1974) Über rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an vital und postmortal entstandenen „Thromben“. *Z Rechtsmed* 74:47–54
- Somogyi E, Sótonyi P (1977) On the possibilities of application of scanning electron microscopy in the forensic medicine. *Z Rechtsmed* 80:205–219
- Sugimura M (1973) Scanning and transmission electron microscopy of individual cells. *J Electron Microsc (Tokyo)* 22:4:367–369
- Vogel R (1926) Untersuchungen über die Blutgerinnung und ihre Bedeutung für die gerichtliche Medizin. *Dtsch Z Gesamte Gerichtl Med* 8:180–201

Eingegangen am 2. Oktober 1986