

Aus dem Institut für Forensische Medizin
des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe - Universität
Frankfurt am Main

Direktor Prof. Dr. med. H. Bratzke

Einfluss der Leichenliegezeit auf Biomechanik und Zellzahl von humanem Perikard

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin des Fachbereiches Humanmedizin
der Johann Wolfgang Goethe - Universität
Frankfurt am Main

Vorgelegt von
Harald Bernd
aus Bingen am Rhein

Frankfurt am Main 2008

Dekan: Prof. Dr. J. Pfeilschifter

Referent: Prof. Dr. H. Bratzke

Korreferent: Prof. Dr. M. Hansmann

Tag der mündlichen Prüfung: 12. 12. 2008

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	5
1.1 Perikard (Herzbeutel)	8
1.2 Kollagen	10
1.3 Fragestellung	13
2 Material und Methoden	15
2.1 Gewebeproben	15
2.1.1 Proben zur biomechanischen Prüfung	15
2.1.2 Proben zur Laktatdehydrogenase (LDH) Testung	17
2.2 Biomechanische Prüfung	17
2.3 Histologische Untersuchung	19
2.4 LDH Test	19
2.4.1 Benötigtes Material	19
2.4.2 Benötigte Reagenzien	20
2.4.3 Testprinzip	20
2.4.4 Versuchsaufbau	21
2.5 Statistik	22
3 Ergebnisse	23
3.1 Mikroskopische Untersuchung	23
3.2 Biomechanische Testung	25
3.2.1 Leichenliegezeit	25
3.2.2 Dicke	26
3.2.3 Lebensalter	27
3.2.4 Aufbewahrungsdauer	28
3.2.5 Body- Mass Index (BMI)	30
3.2.6 Herzgewicht	31
3.2.7 Geschlecht	34
3.2.8 Unterschiede zwischen verschiedenen Entnahmestellen	35

3.3 LDH Test	36
3.3.1 Leichenliegezeit	37
3.3.2 Lebensalter	37
3.3.3 BMI	38
3.3.4 Herzgewicht	39
3.3.5 Geschlecht	39
4 Diskussion	40
4.1 Bewertung des Untersuchungsmaterials	40
4.2 Nachweisbarkeit pathogener Keime bei längerer Leichenliegezeit	42
4.3 Einfluss der Leichenliegezeit auf die biomechanischen Eigenschaften von Perikard	43
4.4 Bestimmung des Anteils vitaler Zellen in den Perikardproben	46
5 Zusammenfassung	49
6 Summary	51
7 Literatur	52
8 Anhang	59
9 Danksagung	70
10 Lebenslauf	71
11 Schriftliche Erklärung	72

1 Einleitung

In vielen Bereichen der Chirurgie kann man zur Deckung von Defekten neben synthetischen Materialien auch allogenes oder xenogenes Gewebe nutzen. Gewebe, die zu Transplantationszwecken zur Verfügung stehen, sind beispielsweise Perikard, Dura mater und Fascia lata.

Perikard findet unter anderem in folgenden chirurgischen Fachbereichen Anwendung: Kinderchirurgie (z.B. Deckung von Bauchwanddefekten (WILLITAL u. LEHMANN 2000)), Allgemeinchirurgie (z.B. Hernienchirurgie (URBACH et al. 2006)), Gefäßchirurgie (z.B. Erweiterungspatch, Gefäßprothese (MANTERO et al. 1996)), Herz- Thoraxchirurgie (z.B. Herzklappenersatz (LAUSBERG et al. 2006)), Ophthalmologie (Defektdeckung (GUPTA et al. 2002)), Neurochirurgie (z.B. Dura-Patch (PARIZEK et al. 1997)), Gynäkologie (Fistelverschluss (AGARWALA COHN 2006)), Urologie (Hypospadie, Korporoplastik (PALESE u. BURNETT 2001)), Hals-Nasen- Ohren Heilkunde (Tympanoplastik (EASTLUND 1995)).

Nach Entnahme des Gewebes kann es durch unterschiedliche Verfahren bis zur Transplantation konserviert und sterilisiert werden. Durch das mehrstufige Tutoplast®-Verfahren (Tutogen, Tissue & Service® Technische Information 4/2000) sollen alle Zellen aus dem Gewebe entfernt werden, sodass ein Gewebe aus reinem Kollagen transplantiert werden kann. Der Vorteil gegenüber synthetischen Materialien besteht darin, dass das transplantierte Gewebe in situ abgebaut und durch körpereigenes Gewebe ersetzt wird (WILLITAL u. LEHMANN 2000; TUTOGEN 1999).

Es gibt in der Literatur einige Fälle, in denen von einer Koinzidenz der Prionen assoziierten Creutzfeldt- Jakob Erkrankung (CJD) bei Implantation von Dura mater berichtet wird (PREUSSER et al. 2006, MOCHIZUKI et al. 2003, CROES et al. 2001; HANNAH et al. 2001, LISCIC et al. 1999). Eine iatrogene Infektion durch die Transplantation wird vermutet oder konnte nicht ausgeschlossen werden. Bis November 2003 wurde von 156 Fällen in 17 Ländern berichtet (SATO 2003). BROWN et al. (2000) beschreibt bis zum Jahr 2000 114 Fälle.

Durch ähnliche mechanische Eigenschaften kann in vielen Fällen auf Perikard zurückgegriffen werden. Bislang wurde in der Literatur ein Fall von CJD nach Perikardtransplantation erwähnt, wobei die Übertragung durch das Transplantat nicht gesichert ist (TANGE et al. 1990). Patienten mit bekannter CJD werden nicht als Spender akzeptiert (Tutogen, Tissue & Service® Technische Information 4/2000).

Perikard und Dura mater haben eine ähnliche Textur. Die kollagenen Fasern sind gitterförmig angeordnet, wodurch die Reißfestigkeit richtungsunabhängig ist. Im Gegensatz zur Dura mater hat das Perikard eine größere Elastizität und Flexibilität bei hoher Reißfestigkeit. Die mittlere Reißfestigkeit von Perikard wird von der Firma Tutogen mit 42N angegeben (im Vergleich: Dura mater 35 N, Fascia lata 135 N). Durch die hohe Elastizität und Flexibilität ist Perikard im Einsatz als Sehnen- oder Bandersatz der Dura mater unterlegen. (TUTOGEN 1999).

Rechtlich wird die Gewebetransplantation durch das „Gesetz über die Spende, Entnahme und Übertragung von Organen und Geweben (Transplantationsgesetz – TPG)“ vom 04.09.2007 geregelt, das sich auf eine Reihe von Änderungen und Ergänzungen in anderen Gesetzen und Verordnungen (Transplantationsgesetz, Arzneimittelgesetz, Transfusionsgesetz, Apothekenbetriebsverordnung) bezieht.

So ist im Transplantationsgesetz unter anderem vorgeschrieben, dass eine Organ- oder Gewebeentnahme nur durchgeführt werden darf, wenn der Spender in eine Entnahme eingewilligt hat, der Tod des Patienten zweifellos festgestellt wurde (Hirntod-Diagnostik) und die Entnahme durch einen Arzt durchgeführt wird (TPG §3 Abs.1). Falls keine Einwilligung zur Organ- oder Gewebespende durch den Spender selbst (Organspendeausweis) oder eine Ablehnung des Spenders vorliegen, muss der Arzt die Zustimmung von den Angehörigen des Verstorbenen einholen (TPG §4) (Rangfolge: Ehegatte, volljährige Kinder, Eltern, volljährige Geschwister, Großeltern).

Entnahmestandards für humanes Gewebe werden durch Richtlinien geregelt. In den Common Standards for Tissues and Cells Banking der European Association of Tissue Banks (EATB) werden postmortale Entnahmefristen für Gewebe angegeben.

Nach den Vorgaben der EATB ist die Entnahme von menschlichen Geweben lediglich in einem Intervall von 24 Stunden nach dem Tod erlaubt. Falls die Leiche nicht 4 bis 6 Stunden nach dem Eintritt des Todes gekühlt wird, verringert sich dieses Intervall auf 12 Stunden. (EATB 2003).

Ähnliche Standards werden auch von der American Association of Tissue Banks (AATB 2001) gefordert.

In den Arbeiten von STORCH (2002) und ENGELHARDT (2000) konnte für Fascia lata und Dura mater gezeigt werden, dass die biomechanischen Eigenschaften der Gewebe auch 120 Stunden nach dem Tod noch unverändert sind. Eine Nutzung der Gewebe zur Transplantation wäre demnach unter mechanischen Aspekten möglich.

Eine Verlängerung der möglichen Entnahmefrist würde zu einer größeren Anzahl potentieller Spender führen. Gerade in der Rechtsmedizin vergehen zwischen dem Tod, der Freigabe der Leiche zur Obduktion durch die Staatsanwaltschaft und der Einwilligung zur Gewebespende durch Angehörige oder den Verstorbenen (Organspendeausweis) meist mehr als 24 Stunden. Somit ist in den meisten Fällen keine Gewebespende möglich.

Aus diesen Gründen war es angezeigt, auch für das Perikard zu überprüfen, ob die Begrenzung der Entnahmezeit auf 24 Stunden post mortem gerechtfertigt ist. Im Folgenden finden sich kurze Abschnitte über Anatomie und Kollagenstruktur des Perikards.

1.1 Perikard (Herzbeutel)

Das Perikard umgibt das Herz und liegt ihm faltenfrei an (HORT 1964). Durch mehrere Ligamente ist das Perikard an Diaphragma, Sternum, Trachea, Aorta und Thymus befestigt (DEBRUNNER 1956). Durch diese Verbindungen wird das Herz im Mediastinum fixiert.

Man unterscheidet zwei Anteile: Pericardium fibrosum und Pericardium serosum. Das Pericardium fibrosum ist ein Beutel aus zugfesten, gitterförmig angeordneten Fasern. Das Pericardium serosum bedeckt die Innenseite des Perikards (Lamina parietalis) und die Außenseite des Herzens (Lamina visceralis, synonym Epikard).



Abb. 1: Vorderfläche des Perikards mit bedeckendem Fettgewebe nach Entnahme

Zwischen Lamina parietalis und visceralis liegt ein kapillärer Spalt (Cavitas pericardialis), der mit 10- 20 ml seröser Flüssigkeit gefüllt ist, um die Reibung bei Bewegungen des Herzens zu minimieren. Die Perikardhöhle dient dem Herzen des weiteren als Lymphraum und das Perikard erschwert das Übergreifen einer Infektion der Nachbarstrukturen auf das Herz (HORT u. BRAEUN 1962). Weiter ist die maximale Volumenzapazität des Perikards geringer als die des Herzens. Hierdurch wird eine Überdehnung des Herzens vermieden (HORT 1964).

An den großen Gefäßen (Aorta, Aa. pulmonales, Vv. cavae, Vv. pulmonales) erfolgt der Umschlag von der Lamina parietalis auf die Lamina visceralis. Hierdurch werden zwei Pforten gebildet (Abb. 2):

Der Sinus transversus pericardii liegt zwischen dem Umschlag um die Arterien und dem um die Venen. Es besteht keine Verbindung zwischen arteriellem und venösem Umschlag, sodass man nach Eröffnung des Perikards einen Durchgang zwischen Arterien und Venen tasten kann. Dieser Umstand dient als Orientierungshilfe bei Herzoperationen.

Der Sinus obliquus pericardii wird durch einen gemeinsamen Umschlag um alle Venen gebildet. Dieser Umschlag zwischen linken und rechten Lungenvenen ist für den Finger nicht passierbar.

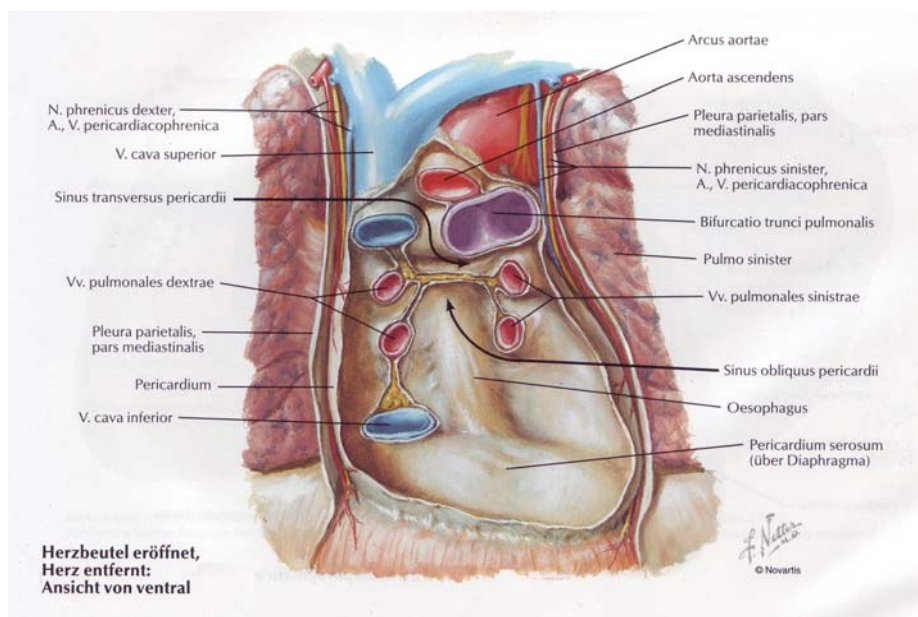


Abb. 2: Perikardhinterwand mit Umschlagverhältnissen; aus NETTER: Atlas der Anatomie des Menschen

Mit Blut wird das Perikard durch die Arteria pericardiophrenica versorgt, die aus der Arteria thoracica interna entspringt. Der venöse Abfluss erfolgt über die Vena pericardiophrenica in die Vena brachiocephalica. Das Perikard wird vom Ramus pericardiacus aus den Nervi phrenici innerviert. (SCHIEBLER et al. 1997; LIPPERT 2000)

Den Hauptbestandteil des Perikards macht das Pericardium fibrosum aus. Es besteht aus kollagenen Fasern, einem dreidimensionalen Netz aus elastischen Fasern und wenigen Fibroblasten, wobei das Kollagen den überwiegenden Anteil ausmacht (HORT 1964). Die kollagenen Fasern verlaufen in drei Hauptrichtungen: Zwei oberflächliche Schichten verlaufen schräg und überkreuzen sich an der Vorderfläche des Herzens. Die innerste Schicht verläuft annähernd longitudinal von den arteriellen Hauptstämmen in Richtung Zwerchfell (HORT u. BRAEUN 1962). Die kollagenen Fasern des Perikards sind nach DEBRUNNER (1956) durch die elastischen Fasern im entspannten Zustand gewellt.

1.2 Kollagen

Kollagen, ein Polypeptid, ist der Hauptbestandteil der extrazellulären Matrix von Binde- und Stützgeweben. Durch seine hohe Reißfestigkeit bestimmt es hauptsächlich die biomechanischen Eigenschaften des Gewebes.

Bis heute sind etwa 20 verschiedene Kollagentypen bekannt, die in fibrilläre und nichtfibrilläre Kollagene unterteilt werden (PETRIDES 1998).

Den fibrillären Kollagentypen ist ein typischer Aufbau aus drei Polypeptidketten gemein, die sich in Form einer Tripelhelix organisieren. Charakteristisch für das Kollagen ist die repetitive Abfolge einer Tripeptidsequenz, wobei jede dritte Aminosäure Glycin ist. Daraus ergibt sich die Formel $(\text{Gly}-\text{X}-\text{Y})_n$. Die Seitenkette des Glycins wird nur von einem Wasserstoffatom gebildet, wodurch die enge Windung der Tripelhelix möglich ist.

Die Aminosäure an der X- Position ist meist Prolin, an der Y- Position oft Hydroxyprolin.

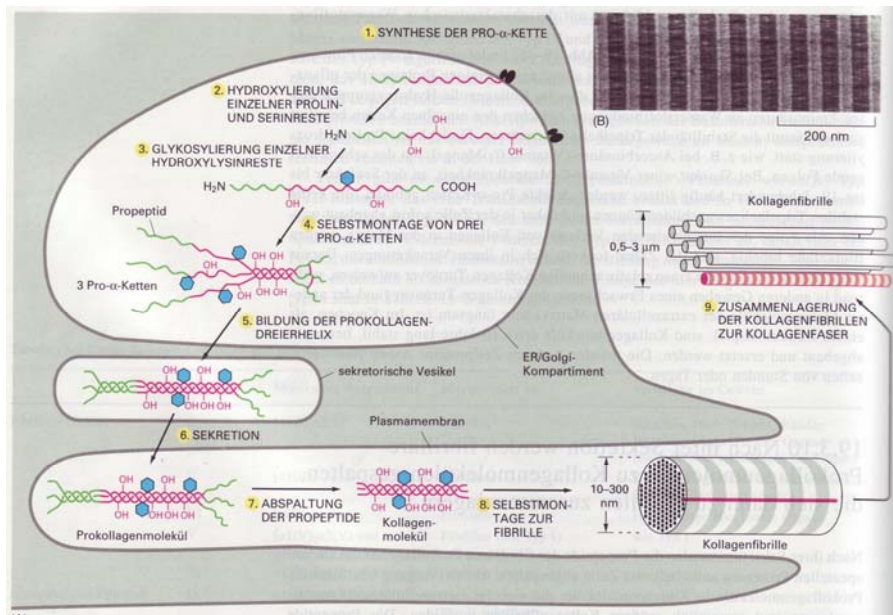


Abb. 3: Kollagensynthese; aus ALBERTS et al.: Molekularbiologie der Zelle

Hinweis: unter 2. muss es Lysinreste, nicht Serinreste, heißen

Die Biosynthese des Kollagens (Abb. 3) beginnt an den Polyribosomen von Fibroblasten, an denen die Pro- α - Helices gebildet und in das endoplasmatische Retikulum (ER) aufgenommen werden. Neben einem kurzen, N- terminalen Signalpeptid für die Aufnahme in das ER, weist die Pro- α - Helix am C- und am N- terminalen Ende so genannte Propeptide auf. Es erfolgt eine Ascorbinsäure- abhängige Hydroxylierung einzelner Prolin- und Lysinreste. Weiter kommt es zur Glykolysierung einzelner Hydroxylysinreste. Diese posttranslationalen Modifikationen sind eine Voraussetzung für die Ausbildung der 300 nm langen Tripelhelix, die vom C- terminalen Ende aus beginnt. Die Tripelhelix wird durch Wasserstoff- und Disulfidbrücken stabilisiert.

Bei Ascorbinsäuremangel (Skorbut) wird eine defekte Pro- α - Helix gebildet. Eine Ausbildung der stabilen Tripelhelix ist nicht möglich und die Pro- α - Helix wird bereits intrazellulär abgebaut.

Nach Sezernierung in die extrazelluläre Matrix über den Golgi Apparat, spalten spezielle Proteasen die N- und C- terminalen Propeptide ab, die eine vorzeitige Fibrillenbildung innerhalb der Zelle vermeiden. Die Kollagenmoleküle weisen durch ihre hydrophilen und hydrophoben Sequenzregionen eine typische Ladungsverteilung

auf. In dem pH- neutralen Milieu der extrazellulären Matrix lagern sie sich zu pentameren Mikrofibrillen mit einem Durchmesser von 4 nm zusammen (Abb. 4). Die extrazellulären Mikrofibrillen werden durch kovalente Querbrücken zwischen Lysinresten zusätzlich stabilisiert. Elektronenmikroskopisch fällt eine Querstreifung der Kollagenfibrillen auf. Diese kommt durch die versetzte Anordnung der Kollagenmoleküle in der Fibrille zustande und weist einen Abstand von 64- 67 nm auf.

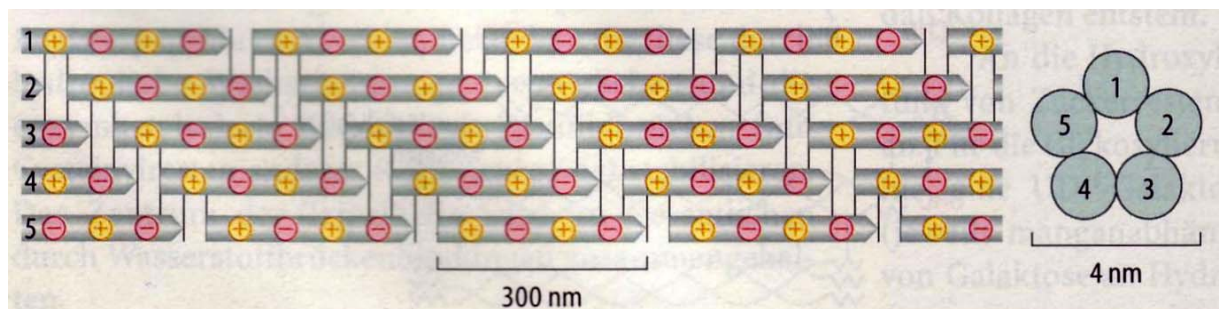


Abb. 4: Mikrofibrillenbildung durch versetzte Zusammenlagerung von Kollagenmolekülen; aus LÖFFLER u. PETRIDES: Biochemie und Pathobiochemie

Der Kollagenabbau erfolgt durch kollagentyp- spezifische Kollagenasen. Da Kollagenasen zweiwertige Metallionen als Kofaktoren benötigen, werden sie auch als Matrix- Metalloproteinasen (MMP) bezeichnet. Sie spalten das Kollagenmolekül an Glycin- Leucin oder Glycin- Isoleucin Verbindungen in zwei Fragmente, die einen auf 29- 32°C erniedrigten Schmelzpunkt aufweisen, sodass sie bei Körpertemperatur wahrscheinlich in die einzelnen Peptidketten zerfallen, die von proteolytischen Enzymen weiter abgebaut werden können.

(PETRIDES 1998, ALBERTS et al. 2004)

1.3 Fragestellung

Wie oben erwähnt gibt es Bedenken gegenüber Dura- Transplantaten durch die beschriebenen Fälle einer iatrogenen Infektion mit der Creutzfeldt- Jakob Erkrankung nach Implantation.

Fascia lata ist in vielen Bereichen kein adäquater Ersatz, da hier die Kollagenfasern streng parallel verlaufen. Das hat zur Folge, dass die Zugfestigkeit der Fascia lata im Faserverlauf zwar hoch (im Mittel 135 N nach Angaben von Tutogen), in anderen Zugrichtungen jedoch ungenügend ist.

Künstliche Materialien werden nicht durch funktionelles, körpereigenes Gewebe ersetzt.

Perikard kann durch eine ähnliche Struktur der Kollagenfasern als Ersatz für Dura mater genutzt werden. Die Reißfestigkeit ist etwas höher angegeben als die der Dura mater, allerdings ist Perikard flexibler und dehnbarer. Dadurch ist unter Umständen die Stabilität des überbrückten Gewebedefekts nicht ausreichend.

Bei allen allogenen Geweben besteht das Problem, dass eine nur geringe Spendebereitschaft vorherrscht. Weiter wird das Angebot an humanen Geweben durch die gesetzliche Entnahmefrist von 24 Stunden nach dem Tod eingeschränkt.

Perikard, Fascia lata und Dura mater sind bradytrophe, kollagenreiche Gewebe. Da die Gewebe einen niedrigen Stoffwechselumsatz aufweisen, stellt sich die Frage, ob tatsächlich 24 Stunden nach dem Tod die biomechanischen Eigenschaften dieser Gewebe nicht mehr den Anforderungen zur Transplantation entsprechen. Durch eine Verlängerung dieser Frist von 24 Stunden käme eine größere Anzahl potentieller Spender in Frage.

Für Dura mater und Fascia lata konnte in den Arbeiten von ENGELHARDT (2000) und STORCH (2002) gezeigt werden, dass selbst 120 Stunden postmortal keine signifikanten Einbußen der biomechanischen Eigenschaften nachweisbar waren.

Durch die oben beschriebenen Nachteile oder Vorbehalte gegenüber Dura mater und Fascia lata, sollen in dieser Arbeit die Auswirkungen der Leichenliegezeit auf die Biomechanik von humanem Perikard untersucht werden.

Weiter soll gezeigt werden, inwiefern sich die Leichenliegezeit auf die Textur des Gewebes und die Anzahl vitaler Zellen auswirkt.

Man kann auf Grund der vorangegangenen Arbeiten und der Bradytrophie des Perikards postulieren, dass ein Stopp der Zufuhr von Sauerstoff und Nährstoffen im Rahmen eines Herz- Kreislauf- Stillstandes erst zeitverzögert Auswirkungen auf das Perikard hat. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, diese These zu untersuchen.

2 Material und Methoden

2.1 Gewebeproben

2.1.1 Proben zur biomechanischen Prüfung

Untersucht wurde Perikard von 68 Verstorbenen, 27 weiblichen und 41 männlichen, im Alter von 18 bis 101 Jahren (Median 48,5 Jahre), deren Obduktionen im Institut für Forensische Medizin der Universität Frankfurt am Main durchgeführt wurden. Die Probenentnahme erfolgte im Zeitraum vom 13.11.2003 bis zum 28.07.2004. Die Arbeit wurde am 09.01.2004 von der Ethik- Kommission der Johann Wolfgang Goethe - Universität Frankfurt gebilligt.

Ausschlusskriterien waren bekannte Infektionskrankheiten, starke Verwachsungen des Perikards, Entzündungen, Verletzungen und ein Alter unter 18 Jahren (analog zu den Arbeiten von STORCH (2002) und ENGELHARDT (2000)). Bei nicht genau bekanntem Todeszeitpunkt wurde eine Differenz zwischen dem Zeitpunkt, an dem die Person zuletzt lebend gesehen wurde, und der Leichenauffindung bis maximal 5 Stunden toleriert. Proben mit einer größeren Zeitdifferenz wurden für die Ermittlung der Auswirkung der Leichenliegezeit auf die Maximalkraft beim Zerreißen nicht verwendet. Von den Verstorbenen wurden Alter, Geschlecht, Gewicht, Größe, Herzgewicht, die Sektionsnummer des rechtsmedizinischen Instituts, Todeszeitpunkt, Entnahmezeit der Probe, Leichenliegezeit, Auffindeort der Leiche, Aufbewahrungszeit von der Entnahme bis zur biomechanischen Prüfung und die Todesursache erfasst.

Bei 11 Proben war die Differenz zwischen der Auffindung der Leiche und dem Zeitpunkt, an dem die Person zuletzt lebend gesehen wurde, größer als 5 Stunden. Diese 11 Proben gingen nicht in die Bestimmung eines Zusammenhangs zwischen Leichenliegezeit und Maximalkraft beim Reißen ein.

Bei einer Probe wurde die Probendicke nicht gemessen und bei einer Probe das Herzgewicht nicht bestimmt. Diese Proben wurden für Berechnungen, die Probendicke oder Herzgewicht beinhalteten, nicht verwertet.

Bei den Sektionen wurde die Vorderwand des Perikards entnommen und am rechten, cranialen Anteil mit drei Einschnitten zur späteren Lagezuordnung markiert. Unter fließendem Leitungswasser wurden sie makroskopisch von Blutanhaftungen gesäubert, auf eine Korkplatte gepinnt und das Fettgewebe abpräpariert. Mittels Schablone wurden je ein transversales und longitudinales, 4 x 1 cm großes Stück aus dem cranialen und apikalen Anteil der Probe mit einem Skalpell herausgeschnitten.

Von jedem Perikard wurden 4 Proben herausgeschnitten. Die einzelnen Messergebnisse eines Perikards wurden zu einem Wert zusammengefasst. Lediglich bei der Ermittlung von Unterschieden zwischen den Entnahmestellen wurden die Einzelwerte genutzt.



Abb. 5: Perikard Vorderfläche nach Abpräparation des Fettgewebes;
die craniale, rechte Seite ist durch 3 Einschnitte markiert

Die Proben wurden bis zur biomechanischen Prüfung in 26%iger NaCl- Lösung bei 4°C asserviert. Die Lösung wurde alle drei bis vier Tage gewechselt.

Vom apikalen Anteil der Probe wurde zur histologischen Untersuchung ein etwa 1 x 1 cm großes Stück herausgeschnitten und in 4,5%iger, gepufferter Formalin- Lösung fixiert.

2.1.2 Proben zur Laktatdehydrogenase (LDH) Testung

Es wurde Perikard von 20 Verstorbenen, 5 weiblichen und 15 männlichen, im Alter von 18 bis 95 Jahren (Median 56 Jahre) untersucht. Die Probenentnahme erfolgte vom 13.10.2004 bis zum 11.10.2005 während der Obduktion im Institut für Forensische Medizin der Universitätsklinik Frankfurt am Main.

Die Ausschlusskriterien entsprachen den in 2.1.1 genannten. Erfasst wurden das Alter der Leiche, die Sektionsnummer des rechtsmedizinischen Instituts, das Geschlecht, der Todeszeitpunkt, der Auffindeort, die Todesursache, der Zeitpunkt der Probenentnahme und die Leichenliegezeit. Eine Aufbewahrung in 26%iger NaCl- Lösung entfiel, da der Test direkt nach der Probenentnahme durchgeführt wurde. Bei nicht eindeutigem Todeszeitpunkt wurde eine Zeitspanne zwischen dem Zeitpunkt, an dem die betreffende Person zuletzt lebend gesehen wurde, und der Auffindung der Leiche von bis zu 3 Stunden toleriert.

Diese Proben wurden analog zu dem oben genannten Procedere gesäubert.

An verschiedenen Stellen der Probe wurden unterschiedlich große Stücke mit einem Gewicht von 0,2 bis 0,9 g herausgeschnitten.

2.2 Biomechanische Prüfung

Die biomechanische Prüfung erfolgte bei der Firma Tutogen Medical GmbH in Neunkirchen am Brand.

Die 4x 1 cm großen Perikardproben wurden mit 0,9%iger NaCl- Lösung gewaschen, um die Zugfestigkeitsprüfmaschine nicht mit hochprozentiger Salzlösung zu verschmutzen. Mit einem Plattenmikrometer der Firma Käfer wurde an drei Stellen die Dicke gemessen. Aus diesen drei Messungen wurde die mittlere Dicke der Probe bestimmt.



Abb. 6: Plattenmikrometer; Fa. Käfer

Die Proben wurden anschließend mit der Zugfestigkeitsprüfmaschine der Firma Instron (Instron Universal Prüfmaschine Modell 5569J2217) untersucht. Die 4 cm langen Proben wurden zwischen den beiden Klemmböcken, die in einem Abstand von 1 cm eingestellt waren, so arretiert, dass eine Prüffläche von 1 cm² entstand. Die biomechanische Prüfung erfolgte analog dem firmeninternen Prüfschema für Dura mater Exponate.

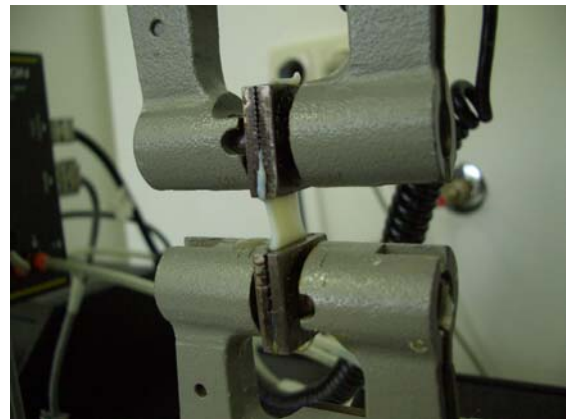
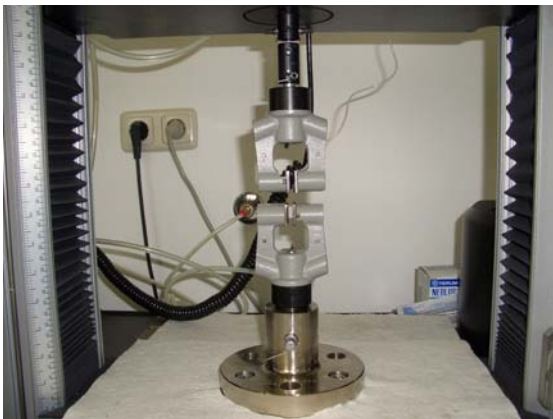


Abb. 7: Zugfestigkeitsprüfmaschine der Fa. Instron; links mit offenen Klemmböcken zum Einspannen der Probe; rechts mit eingespannter Perikardprobe

Die Klemmböcken der Maschine bewegten sich während des Tests mit einer konstanten Geschwindigkeit von 3,33 mm/sec auseinander und dehnten die eingespannte Probe bis zum Zerreißen. Der angeschlossene Rechner registrierte hierbei die Kraft- Dehnungs-Kurve, die prozentuale Dehnung bei 10 N und die aufgewandte Kraft beim Reißen der Probe.

2.3 Histologische Untersuchung

Die mit Formalin fixierten Proben wurden in einen Paraffinblock eingebettet und in 5 µm dicke Scheiben geschnitten. Von jeder untersuchten Perikardprobe wurden transversale und sagittale Schnitte hergestellt. Die Schnitte wurden jeweils mit Hämotoxylin- Eosin nach Meyer und mit Azan nach Heidenhain gefärbt.

Die mikroskopische Untersuchung erfolgte mit dem binokkularen Lichtmikroskop der Firma Instron mit 40-, 400- und 600- facher Vergrößerung. Geachtet wurde auf Veränderungen der Textur und Zeichen von Mitose, Apoptose und Nekrose.

2.4 LDH Test

2.4.1 Benötigtes Material:

- Cytotoxicity detection Kit, Fa. Roche Molecular Biochemicals, Mannheim
- Triton X 100, Merck, Darmstadt
- PBS Lösung + Kalzium und Magnesium, Gibco, Eggenstein
- Analysenwaage, Fa. Sartorius, Göttingen
- Glaspipetten, Fa. Brand Eterna, Wertheim
- 20ml Röhrchen, Fa. Falcon, Heidelberg
- Reaktionsgefäße, Fa. Sarstedt, Nümbrecht
- Eiswanne mit Reaktionsgefäßhalter, Fa. Renner, Dannstadt
- Pipetten, Eppendorf, Hamburg
- Pipettenspitzen, Fa. Schreck, Hofheim
- Zentrifuge 5417R, Eppendorf- Holoing Christ, Hamburg
- Mikrotiterplatte, Nunc, Wiesbaden
- Photometer, Elisa- Reader MR 500, Dynatech

2.4.2 Benötigte Reagenzien:

- Kit Lösungen:

- Lösung I: NAD^+ + Diaphorase (Katalysator)
- Lösung II: Farbstoff Tetrazoliumsalz INT
- Herstellung der Reaktionslösung: 250 μl Lösung I + 11,25 ml Lösung II

2.4.3 Testprinzip

Die nur cytosolisch vorliegende Laktatdehydrogenase (LDH) wird bei Zellschäden freigesetzt.

Im ersten Schritt der Reaktion wird unter dem katalytischen Einfluss von LDH Laktat zu Pyruvat oxidiert, wobei NAD^+ zu $\text{NADH} + \text{H}^+$ reduziert wird. Im zweiten Reaktionsschritt wird Tetrazoliumsalz (gelb) Diaphorase- katalysiert zu Formazansalz (rot) reduziert. Das im ersten Reaktionsschritt entstandene NADH wird im zweiten Schritt wieder zu NAD^+ oxidiert. Der Farbumschlag von gelb nach rot verweist auf das Vorhandensein von LDH in der Probe. Die Menge des entstehenden Formazansalzes wird photometrisch bei 490 nm bestimmt.

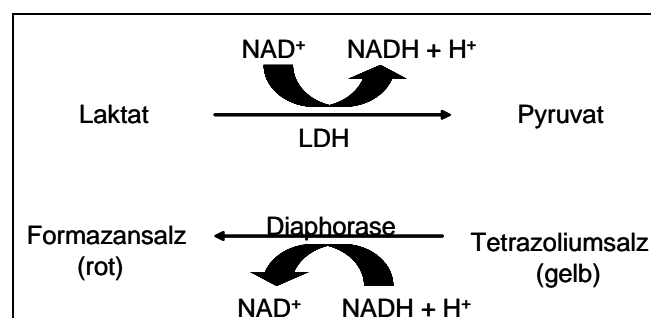


Abb. 8: Schematische Darstellung des Testprinzips

2.4.4 Versuchsaufbau

Aus jedem untersuchten Perikard wurden sechs unterschiedlich große Stücke mit einem Gewicht von 0,2 bis 0,9 g mit einem Skalpell herausgeschnitten. Jede dieser sechs Proben wurde eingewogen und PBS + Ca⁺⁺ und Mg⁺⁺ in einem Verhältnis von 1:10 zugegeben. Die Probe wurde durch leichtes Schwenken gemischt und anschließend 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach kurzem Aufschütteln wurde 1ml des Überstandes in ein Eppendorf Gefäß pipettiert und bis zur LDH- Bestimmung bei etwa 4°C im Eisbad gekühlt.

Die gleichen Perikardproben wurden mit Triton X 100 und PBS auf ihr Ursprungsvolumen aufgefüllt und so eine 2%ige Tritonlösung hergestellt. Triton ist ein nichtionisches Detergens, das die Zellmembran lysiert.

Analog zum ersten Teil des Tests wurde die Tritonprobe 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und nach kurzem Aufschütteln 1ml des Überstandes in ein Eppendorf Gefäß überführt.

Die sechs PBS Proben und die sechs Triton Proben wurden bei 6°C mit 6000 rpm in einer Eppendorf Tischzentrifuge über 15 Minuten zentrifugiert. Von jeder Probe wurden 100 µl Überstand in eine Mikrotiterplatte überführt und 100 µl der Reaktionslösung zugesetzt. Da das farbige Reaktionsprodukt lichtempfindlich ist, wurde das Gemisch für 4 Minuten im Dunkeln inkubiert und anschließend die optische Dichte bei 490 nm im Photometer gemessen.

Die in der PBS Probe gemessene LDH Aktivität ist auf bereits geschädigte und somit durchlässige Zellmembranen in der Probe zurückzuführen. Die in der tritonversetzten Probe gemessene LDH Aktivität entspricht der maximal möglichen LDH Konzentration, da Triton X 100 vorhandene Zellmembranen lysiert. So kann davon ausgegangen werden, dass alle vorhandenen Zellmembranen zerstört wurden.

Setzt man die Zellzahl der Tritonprobe gleich 100% kann man auf den Anteil lebender Zellen in der ursprünglichen Perikardprobe rückschließen. Von der LDH Probe wurde, wie oben beschrieben, 1 ml des Überstandes entnommen. Der mit dem Überstand der Probe entnommene Anteil an freier LDH wurde auf die LDH- Aktivität in der tritonversetzten Probe addiert.

Von jedem Perikard wurden sechs Proben genommen und aus den sechs Einzelmessungen der mittlere Anteil lebender Zellen errechnet.

2.5 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm BiAS. für Windows.

Die Dickenmessung erfolgte an drei Stellen einer Probe. Der Mittelwert der Messergebnisse wurde für die weitere Auswertung genutzt.

Mittels Pearson Regression wurde bei den Proben der biomechanischen Testung die Abhängigkeit der Parameter Maximalkraft beim Reißen und prozentuale Dehnung bei 10 N von folgenden Variablen bestimmt: Leichenliegezeit, Alter, Perikarddicke, Aufbewahrungsdauer und BMI.

Die Untersuchungen auf geschlechtsspezifische Unterschiede wurden mit dem Wilcoxon- Mann- Whitney Test durchgeführt.

Für die biomechanische Testung wurde aus den Ergebnissen der vier Proben eines Perikards der Mittelwert errechnet und für die weitere Auswertung genutzt. Ebenfalls wurden die Einzelwerte der vier Proben eines Perikards auf Unterschiede zwischen den verschiedenen Entnahmeorten untersucht.

Die Ergebnisse der sechs Proben eines Perikards bei dem LDH Test wurden zu einem Mittelwert zusammengefasst. Die Prüfung auf Abhängigkeit der erhobenen Parameter von der Leichenliegezeit erfolgte mittels Pearson Regression.

3 Ergebnisse

3.1 Mikroskopische Untersuchung

Bei allen Hämatoxylin/Eosin- gefärbten Schnitten zeigen sich die Kollagenfasern stark rot gefärbt. Man findet wellenförmig angeordnete Kollagenfasern in verschiedenen Verlaufsrichtungen. Eingestreut zwischen den Fasern erkennt man einzelne, spindelförmige Fibroblasten mit violetten Zellkernen (im Durchschnitt 6 Fibroblasten pro Blickfeld bei 100-facher Vergrößerung). Je nach Schnittebene sieht man zum Teil große Rasen an Fettzellen. Kleinere Artefakte durch das Zuschneiden der Präparate lassen einige Fasern wie abgeschnitten erscheinen.

Bei den Präparaten mit einer Leichenliegezeit unter 24 Stunden findet man spindelförmige Fibroblasten mit meist bipolar ausgezogen Zytoplamafortsätzen. Der Zellkern liegt größtenteils zentral. Die Nukleoli lassen sich gut abgrenzen. Vereinzelt erkennt man nekrotische Fibroblasten mit verdichtetem Chromatin und einer flächigen Volumenzunahme.

Im Gegensatz dazu wirken die Fibroblasten bei den Präparaten mit einer Leichenliegezeit über 120 Stunden wie aufgebläht. Sie sind flächig und voluminöser. Nukleoli sind nur teilweise sichtbar. Das Chromatin ist meist verdichtet. Es fallen gehäuft Zelltrümmer auf.

Einen Einfluss der Leichenliegezeit auf die Textur des Gewebes lässt sich nicht erkennen. Faserdichte und –dicke erscheinen in allen Präparaten gleich. Vermeintliche Unterschiede entstehen durch unterschiedliche Schnittschichten.

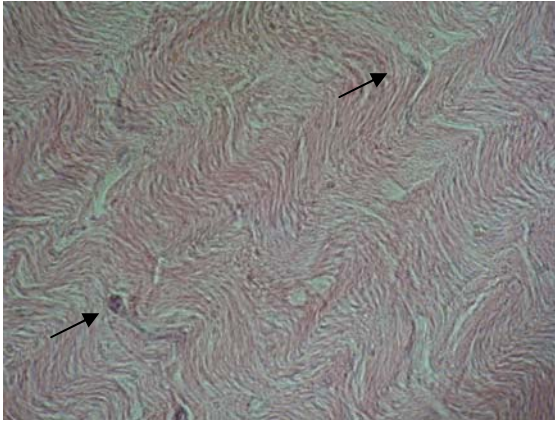


Abb. 9: Histologisches Bild des apikalen Bereichs einer Perikardprobe; Leichenliegezeit 3 h; → spindelförmige Fibroblasten; Hämatoxylin/Eosin Färbung, Objektiv 100- fach

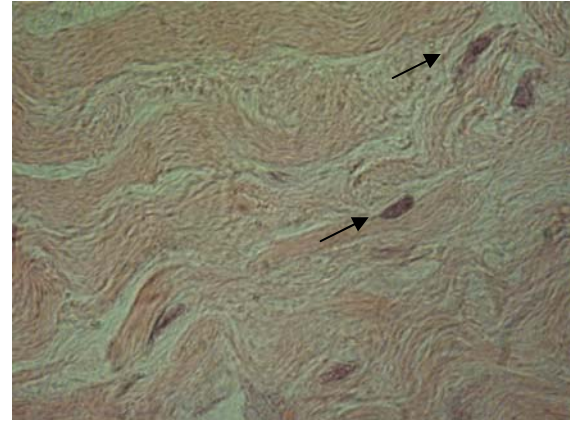


Abb. 10: Histologisches Bild des apikalen Bereichs einer Perikardprobe; Leichenliegezeit 348 h; → volumenvergrößerte Fibroblasten, oberer Pfeil mit verdichtetem Chromatin; Hämatoxylin/Eosin Färbung, Objektiv 100- fach

In den Azan- gefärbten Proben dominieren die tief- blau gefärbten Kollagenfasern. Die Zellen sind nicht so gut zu beurteilen wie in der HE- Färbung. Auch hier sind keine Auswirkungen der Leichenliegezeit auf die Textur zu erkennen.

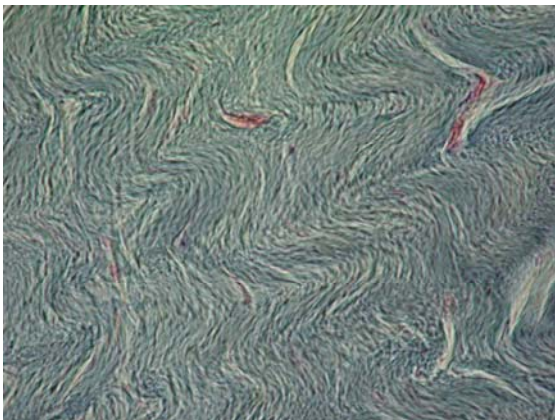


Abb. 11: Histologisches Bild des apikalen Bereichs einer Perikardprobe; Leichenliegezeit 10 h; Azan Färbung, Objektiv 100- fach

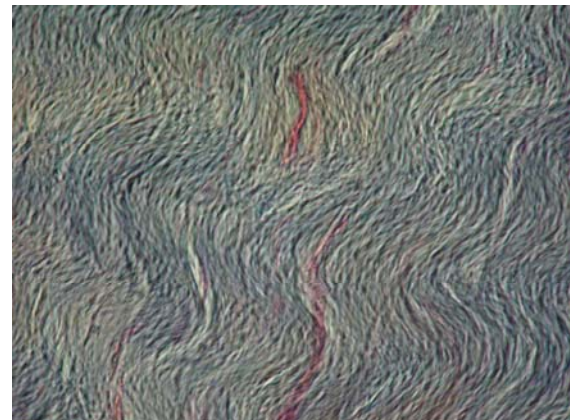


Abb. 12: Histologisches Bild des apikalen Bereichs einer Perikardprobe; Leichenliegezeit 223 h; Azan Färbung, Objektiv 100- fach

3.2 Biomechanische Testung

3.2.1 Leichenliegezeit

Es wurde die Auswirkung der Leichenliegezeit auf biomechanische Eigenschaften des Perikards untersucht. Bestimmt wurden die Maximalkraft beim Reißen und die prozentuale Dehnung der Probe bei einer Krafteinwirkung von 10 Newton.

57 Proben wurden untersucht. Bei 11 der 68 Proben war die Differenz zwischen dem Zeitpunkt, an dem die Personen zuletzt lebend gesehen wurden, und der Leichenauffindung größer als fünf Stunden. Diese gingen nicht in die Berechnung ein.

Bei starker Streuung der Ergebnisse zeigte sich eine abfallende Regressionsgerade (Abb. 13). Bei längerer Leichenliegezeit nahm die Maximalkraft beim Reißen pro Stunde um 0,078 Newton ab. Diese Korrelation war nicht signifikant ($p=0,126$).

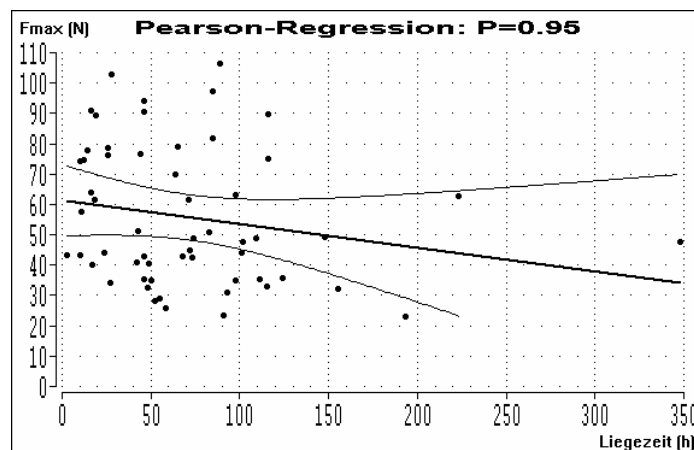


Abb. 13: Regressionsgerade; Auswirkung der Leichenliegezeit in Stunden auf die Maximalkraft beim Reißen (F_{max}) in Newton; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,126$; Regressionskoeffizient $b=-0,078$

Die prozentuale Dehnung bei 10 N sank minimal mit zunehmender Leichenliegezeit (Abb. 14). Pro Stunde nahm die Dehnbarkeit um 0,006% ab. Es zeigte sich hier ebenfalls kein signifikanter Einfluss ($p=0,148$).



Abb. 14: Regressionsgerade; Auswirkung der Leichenliegezeit in Stunden auf die prozentuale Dehnung der Probe bei 10 Newton; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,148$; Regressionskoeffizient $b= -0,006$

3.2.2 Dicke

Ziel dieser Untersuchung war es zu erfahren, ob die Probendicke einen Einfluss auf die Maximalkraft beim Reißen und die prozentuale Dehnung bei 10 N hat. 67 Proben gingen in die Auswertung ein. Bei einer Probe lag keine Dickenmessung vor.

Mit zunehmender Probendicke stieg die Maximalkraft beim Reißen an (Abb. 15). Bei einer um 0,1 mm dickeren Probe lag die Maximalkraft beim Reißen um 7,2 N höher. Die Dicke der Probe hatte trotz starker Streuung der Einzelwerte einen signifikanten Einfluss auf die Maximalkraft beim Reißen ($p=0,040$).

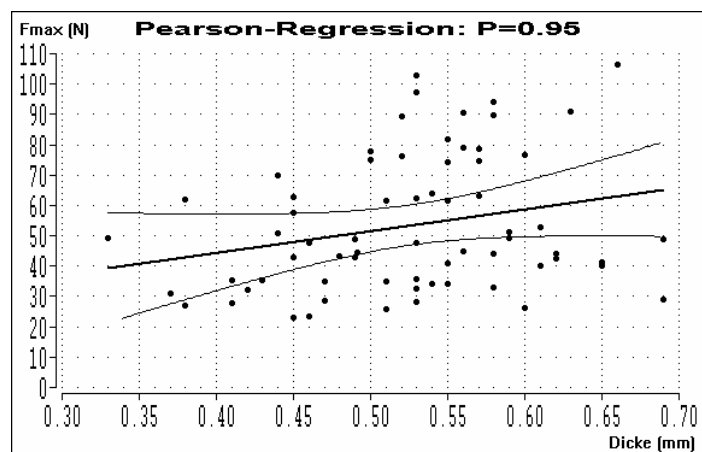


Abb. 15: Regressionsgerade; Einfluss der Probendicke in Millimetern auf die Maximalkraft beim Reißen (F_{max}) in Newton; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,040$; Regressionskoeffizient $b=71,705$

Mit der Dicke der Proben nahm die prozentuale Dehnung bei 10 N leicht zu (Abb. 16). Eine um 0,1 mm dickere Probe war bei einer Kraft von 10 Newton um 0,46% mehr gedehnt. Es handelte sich um keinen signifikanten Einfluss ($p=0,107$).

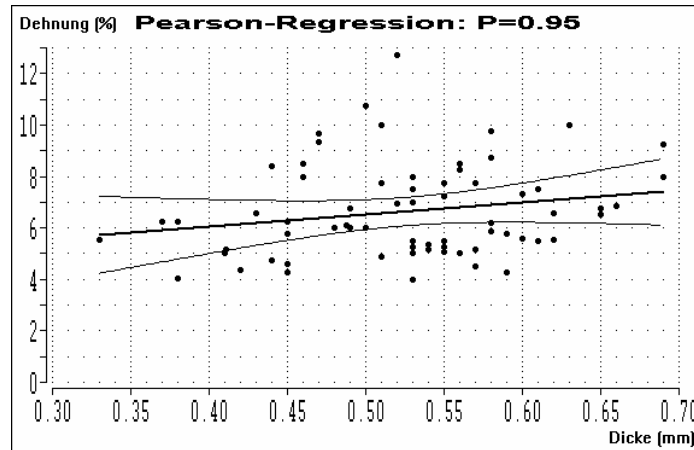


Abb. 16: Regressionsgerade; Einfluss der Probendicke in Millimetern auf die prozentuale Dehnung bei einer Kraft von 10 Newton; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,107$; Regressionskoeffizient $b=4,629$

3.2.3 Lebensalter

Das Lebensalter zeigte einen signifikanten Einfluss auf die biomechanischen Eigenschaften des Perikards. Untersucht wurden 68 Proben.

Es ergab sich eine steil abfallende Regressionsgerade mit leicht streuenden Einzelwerten (Abb. 17). Pro Lebensjahr sank die Maximalkraft beim Reißen um 0,84 N. Diese Beeinflussung war signifikant ($p<0,001$).



Abb. 17: Regressionsgerade; Einfluss des Lebensalters in Jahren auf die Maximalkraft beim Reißen in Newton; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p < 0,001$; Regressionskoeffizient $b = - 0,842$

Das Lebensalter zeigte einen signifikanten Einfluss auf die prozentuale Dehnung bei 10 N ($p = 0,004$). Mit höherem Lebensalter sank die Dehnbarkeit bei 10 N (Abb. 18). Pro Lebensjahr war das Perikard um 0,029% weniger dehnbar.



Abb. 18: Regressionsgerade; Einfluss des Lebensalters in Jahren auf die prozentuale Dehnung bei 10 N; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p = 0,004$; Regressionskoeffizient $b = - 0,029$

3.2.4 Aufbewahrungsdauer

Durch eine unterschiedlich lange Aufbewahrung der Proben zwischen Entnahme und biomechanischer Testung ergab sich die Frage, ob die Aufbewahrungsdauer einen

Einfluss auf die biomechanischen Eigenschaften des Perikards hat. 68 Proben gingen in die Auswertung ein.

Bei starker Streuung der Einzelwerte ergab sich eine leicht abfallende Regressionsgerade (Abb. 19). Mit jedem Tag Aufbewahrungsdauer nahm die Maximalkraft beim Reißen um 0,123 N ab. Diese Abnahme der Maximalkraft beim Reißen war nicht signifikant ($p=0,073$).



Abb. 19: Regressionsgerade; Einfluss der Aufbewahrungsdauer in Tagen auf die Maximalkraft beim Reißen in Newton; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,073$; Regressionskoeffizient $b= -0,123$

Die Auswirkung der Aufbewahrungsdauer auf die Dehnung bei 10 N ergab eine fast waagerechte Regressionsgerade (Abb. 20). Es zeigte sich keine signifikante Abhängigkeit ($p=0,641$).

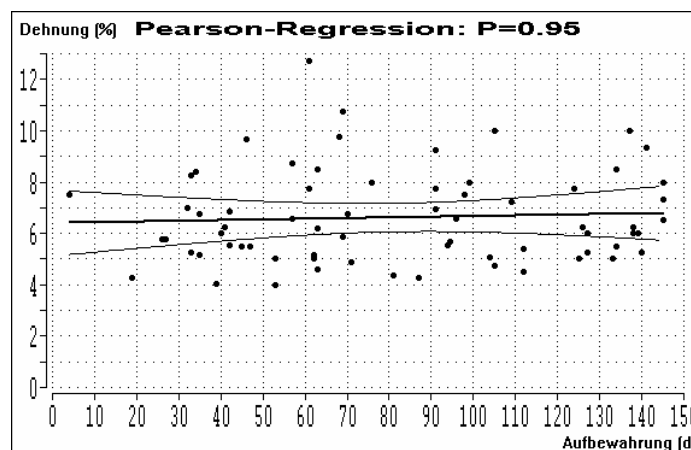


Abb. 20: Regressionsgerade; Einfluss der Aufbewahrungsdauer in Tagen auf die prozentuale Dehnung bei 10 N; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,641$; Regressionskoeffizient $b=0,003$

3.2.5 Body- Mass- Index (BMI)

Der Body- Mass- Index ist ein Maß für das relative Körpergewicht unter Berücksichtigung des Körperbaus. Er ergibt sich durch die Formel:

$$\frac{\text{Körpergewicht in kg}}{(\text{Körpergröße in m})^2}$$

Es zeigte sich kein signifikanter Einfluss auf die biomechanischen Eigenschaften des Perikards. Untersucht wurden 68 Proben.

Bei stark streuenden Werten ergab sich eine annähernd waagerechte Regressionsgerade (Abb. 21). Der BMI hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Maximalkraft beim Reißen ($p=0,643$).

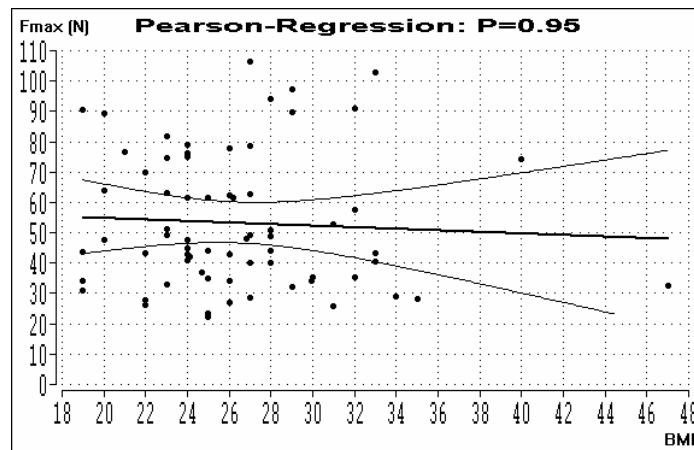


Abb. 21: Regressionsgerade; Einfluss des Body- Mass- Index auf die Maximalkraft beim Reißen in Newton; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,643$; Regressionskoeffizient $b= -0,254$

Die Auswirkung des BMI auf die prozentuale Dehnung bei 10 N ergab eine minimal ansteigende Regressionsgerade (Abb. 22). Bei einem um 1 höheren BMI war die Probe bei einer Kraft von 10 N um 0,015% mehr gedehnt. Dieser Einfluss war statistisch nicht signifikant ($p=0,743$).

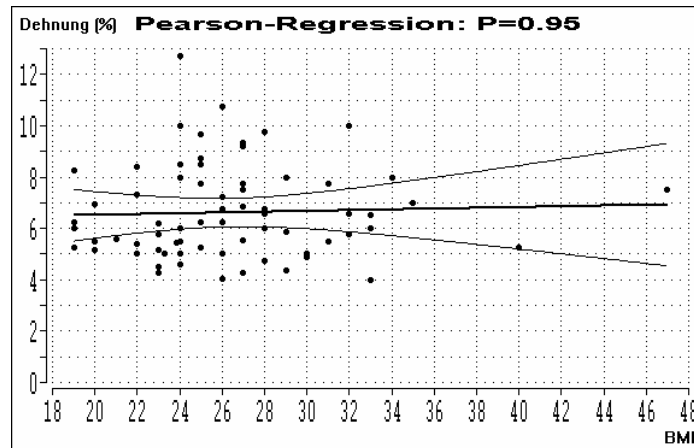


Abb. 22: Regressionsgerade; Einfluss des Body- Mass- Index auf die prozentual Dehnung bei 10 N; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,743$; Regressionskoeffizient $b=0,015$

3.2.6 Herzgewicht

Das Herzgewicht zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die biomechanischen Eigenschaften des Perikards. Untersucht wurden 67 Proben. Bei einer Probe war kein Herzgewicht erhoben worden.

Die Untersuchung einer Abhängigkeit der Maximalkraft beim Reißen vom Herzgewicht ergab eine abfallende Regressionsgerade (Abb. 23). Das Perikard eines um 10 g schwereren Herzens riss bei einer um 0,47 N geringeren Kraft. Diese Beeinflussung war allerdings nicht signifikant ($p=0,094$).



Abb. 23: Regressionsgerade; Einfluss des Herzgewichts in Gramm auf die Maximalkraft beim Reißen in Newton; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,094$; Regressionskoeffizient $b=-0,047$

Das Herzgewicht zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die prozentuale Dehnung bei 10 N ($p= 0,623$) (Abb. 24). Es ergab sich eine fast waagrecht verlaufende Regressionsgerade.

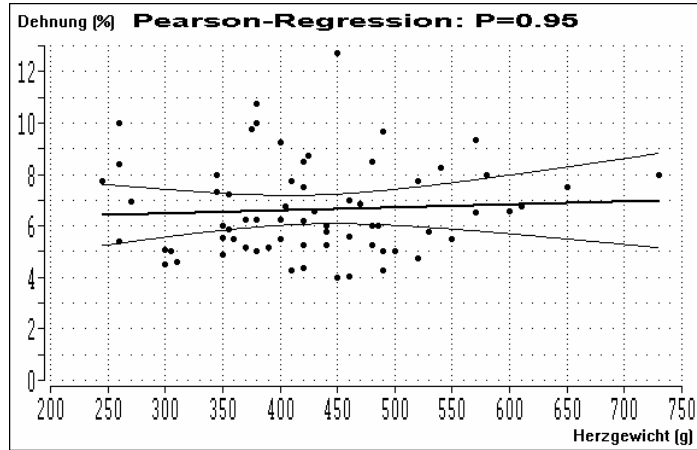


Abb. 24: Regressionsgerade; Einfluss des Herzgewichts in Gramm auf die prozentuale Dehnung bei 10 N; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p= 0,623$; Regressionskoeffizient $b= 0,001$

Ein möglicher Einfluss des Herzgewichts auf die Perikarddicke wurde an 66 Proben untersucht (Abb. 25). Bei einer Probe lag kein Herzgewicht und bei einer keine Dickenmessung vor.

Es zeigte sich eine ansteigende Regressionsgerade. Bei einem um 100 g schwererem Herzen war das Perikard um 0,02 mm dicker. Es handelte sich um keinen signifikanten Einfluss ($p= 0,087$).

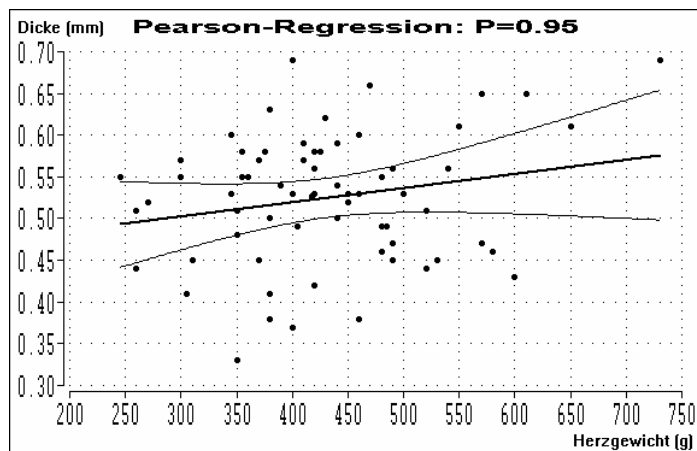


Abb. 25: Regressionsgerade; Einfluss des Herzgewichts in Gramm auf die Perikarddicke in Millimeter; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p= 0,087$; Regressionskoeffizient $b= 0,0002$

Ein Einfluss des Body- Mass- Index auf das Herzgewicht wurde an 67 Proben untersucht (Abb. 26). Es konnte eine signifikante Korrelation des BMI mit dem Herzgewicht festgestellt werden ($p= 0,018$). Bei Personen mit einem um 1 höheren BMI war das Herz 5,63 g schwerer.

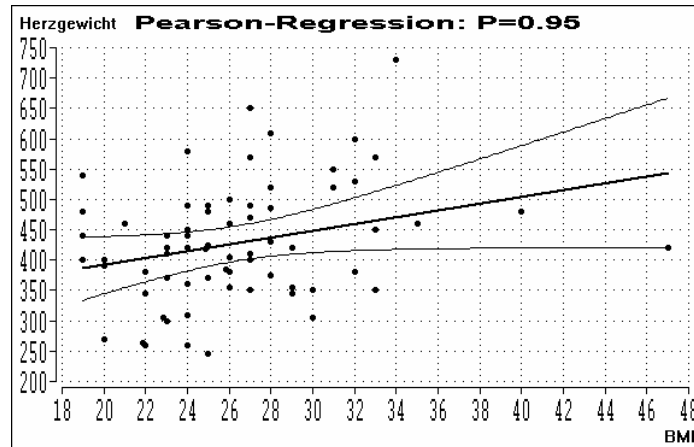


Abb. 26: Regressionsgerade; Einfluss des BMI auf das Herzgewicht in Gramm; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p= 0,018$; Regressionskoeffizient $b= 5,632$

Ein signifikanter Zusammenhang bestand zwischen Lebensalter und Herzgewicht ($p= 0,037$) (Abb. 27). Untersucht wurden 67 Proben.

Mit zunehmendem Alter stieg das Herzgewicht. Pro Lebensjahr nahm das Herzgewicht um 1,16 g zu.



Abb. 27: Regressionsgerade; Einfluss des Lebensalters in Jahren auf das Herzgewicht in Gramm; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p= 0,037$; Regressionskoeffizient $b= 1,157$

3.2.7 Geschlecht

Für die Beurteilung geschlechtsspezifischer Unterschiede auf die biomechanischen Eigenschaften des Perikards wurden 68 Proben untersucht. Das Perikard von 41 Männern und 27 Frauen wurde bewertet.

Das Geschlecht hatte einen signifikanten Einfluss auf die Maximalkraft beim Reißen ($p= 0,004$). Das Perikard von Männern riss im Median bei 53 N, das von Frauen bei 40,75 N. Somit war das Perikard von Männern im Median um 12,25 N stabiler.

Das Perikard von Männern war bei einer Kraft von 10 N im Median 6,57% gedehnt, das von Frauen um 6%. Das Perikard von Männern war bei 10 N im Median um 0,57% mehr gedehnt. Dieser Unterschied war nicht signifikant ($p= 0,210$).

Ein möglicher Einfluss des Geschlechts auf die Perikarddicke wurde an 67 Proben untersucht. Bei einer Perikardprobe lag keine Dickenmessung vor. Das Perikard von 41 Männern und 26 Frauen ging in die Auswertung ein.

Das Perikard von Männern war signifikant dicker als das von Frauen ($p= 0,012$). Im Median war das Perikard von Männern 0,55 mm dick, das von Frauen 0,51 mm. Im Median war das Perikard von Männern um 0,04 mm dicker

Das Geschlecht zeigte auch einen signifikanten Einfluss auf das Herzgewicht ($p= 0,034$). Es wurde das Herzgewicht von 40 Männern und 27 Frauen untersucht. Im Median betrug das Herzgewicht von Männern 440 g, das von Frauen 400 g. Somit war das männliche Herz im Median um 40 g schwerer.

3.2.8 Unterschiede zwischen verschiedenen Entnahmestellen

Wie bei „Material und Methoden“ beschrieben, wurden pro Perikard 4 Proben je 4x1 cm herausgeschnitten. Je Perikard lagen so jeweils von dem cranialen und dem apikalen Anteil eine longitudinale und eine transversale Probe vor. Alle Proben wurden wie oben beschrieben getestet. Von 53 Perikard- Proben wurden alle Einzeldaten und Probendicken erhoben.

In der unten stehenden Tabelle (Tabelle 1) sind die Mittelwerte samt Standardabweichung der gemessenen Parameter aufgelistet:

Ort	Maximalkraft beim Reißen [N]	Dehnung bei einer Krafteinwirkung von 10N [%]	Dicke [mm]
cranial transversal	55,82 ± 25,48	6,51 ± 2,33	0,55 ± 0,14
cranial longitudinal	54,05 ± 25,12	6,64 ± 2,59	0,53 ± 0,10
apikal transversal	53,45 ± 26,34	6,48 ± 2,24	0,51 ± 0,11
apikal longitudinal	56,35 ± 30,39	6,48 ± 2,32	0,53 ± 0,12

Tab. 1: Mittelwerte und Standardabweichungen der Proben unterschiedlicher Entnahmeorte

Anhand der Mittelwerte ist ersichtlich, dass es bei der Maximalkraft beim Reißen, der Dehnung bei 10 Newton und der Durchschnittsdicke keine ersichtlichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Entnahmeorten gaben. Im Mittel lag die Maximalkraft beim Reißen bei 54,92 N ($\pm 1,39$), die prozentuale Dehnung bei 10 N bei 6,53% ($\pm 0,08$) und die Dicke bei 0,53 mm ($\pm 0,02$).

Für jede Entnahmestelle wurde ein Einfluss der Leichenliegezeit auf die Maximalkraft beim Zerreißen der Probe und der prozentuellen Dehnung bei einer Kraft von 10 Newton getestet.

Analog zu den vorangehenden Ergebnissen (3.2.1 Leichenliegezeit) konnte bis auf eine Ausnahme kein signifikanter Einfluss gefunden werden.

Die Leichenliegezeit zeigte bei den Proben aus dem cranialen, transversalen Bereich einen signifikanten Einfluss auf die Maximalkraft beim Zerreißen der Probe ($p= 0,02$) (Abb. 28):

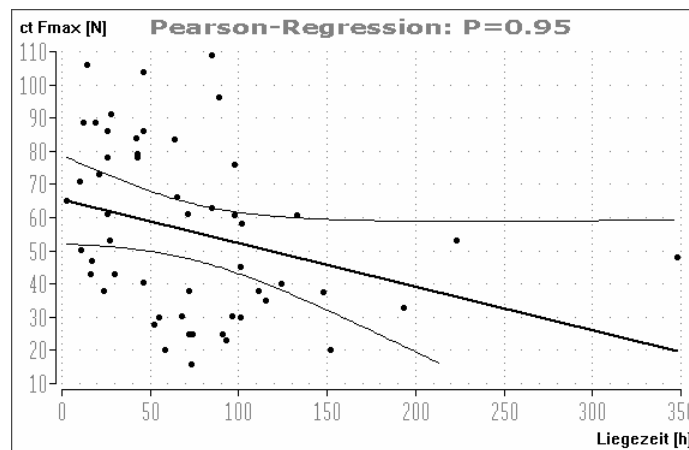


Abb.: 28: Regressionsgerade; Einfluss der Leichenliegezeit in Stunden auf die Maximalkraft beim Reißen in Newton, Überschreitungswahrscheinlichkeit $p= 0,02$; Regressionskoeffizient $b= - 0,131$

Die stark abfallende Regressionsgerade zeigt einen Abfall der Maximalkraft beim Zerreißen der Probe um 0,131 Newton pro Stunde Leichenliegezeit.

3.3 LDH Test

Der LDH Test wurde durchgeführt, um auf die Anzahl der lebenden Zellen in der Perikardprobe rückzuschließen. Mit dem Test kann man den prozentualen Anteil vitaler Zellen in der Probe bestimmen (siehe 2.4.4 Versuchsaufbau). Untersucht wurde der Einfluss verschiedener Variablen auf den prozentualen Anteil lebender Zellen.

Untersuchte Variablen waren: Leichenliegezeit, Lebensalter, Body- Mass- Index, Herzgewicht und Geschlecht.

Untersucht wurden 20 Perikardproben. Bei nicht exakt bekanntem Todeszeitpunkt wurde eine Differenz zwischen dem Zeitpunkt, an dem die Personen zuletzt lebend gesehen wurden, und der Leichenauffindung bis zu drei Stunden akzeptiert.

3.3.1 Leichenliegezeit

Es ergab sich eine abfallende Regressionsgerade (Abb. 29). Der Anteil lebender Zellen der Perikardproben zeigte eine signifikante Abhängigkeit von der Leichenliegezeit ($p=0,017$). Mit längerer Leichenliegezeit nahm der Anteil lebender Zellen in den Proben ab. Pro Stunde Leichenliegezeit sank der Anteil lebender Zellen um 0,17%.

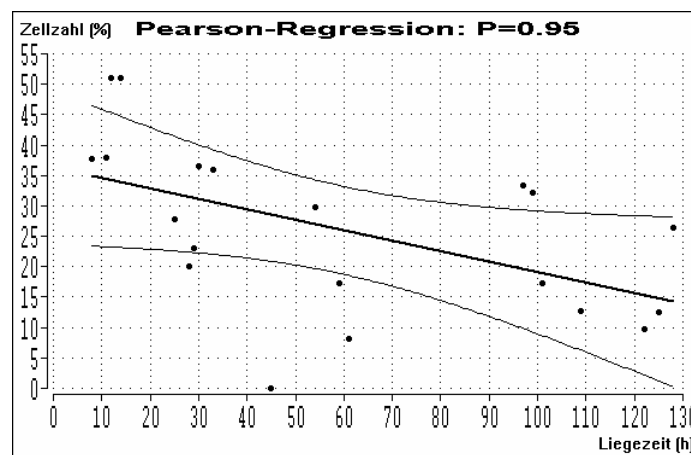


Abb. 29: Regressionsgerade; Einfluss der Leichenliegezeit in Stunden auf den Anteil lebender Zellen in Prozent; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,017$; Regressionskoeffizient $b=-0,173$

3.3.2 Lebensalter

Es ergab sich eine leicht absinkende Regressionsgerade (Abb. 30). Pro Lebensjahr sank der Anteil lebender Zellen um 0,16%. Es zeigte sich aber kein signifikanter Einfluss ($p=0,246$).



Abb. 30: Regressionsgerade; Einfluss des Lebensalters in Jahren auf den Anteil lebender Zellen in Prozent; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,246$; Regressionskoeffizient $b= -0,155$

3.3.3 BMI

Bei starker Streuung der Einzelwerte ergab sich eine abfallende Regressionsgerade (Abb. 31). Bei einem um eins höheren BMI sank der Anteil lebender Zellen um 0,71%. Dieser Einfluss war nicht signifikant ($p=0,110$).

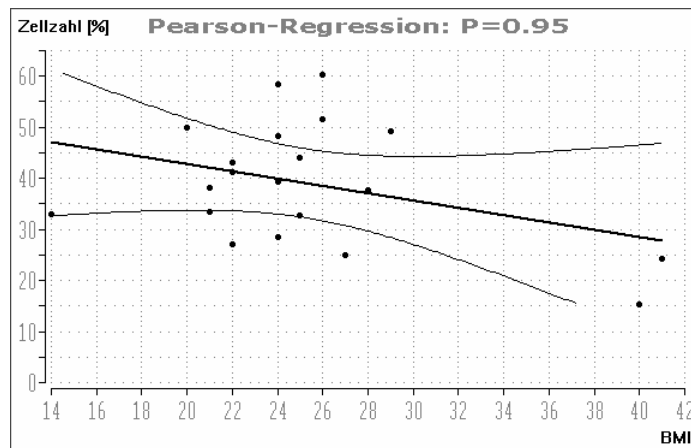


Abb. 31: Regressionsgerade; Einfluss des BMI auf den Anteil lebender Zellen in Prozent; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p=0,110$; Regressionskoeffizient $b= -0,710$

3.3.4 Herzgewicht

Es ergab sich eine steil abfallende Regressionsgerade (Abb. 32). Das Herzgewicht zeigte einen signifikanten Einfluss auf den Anteil lebender Zellen in der Perikardprobe ($p < 0,001$). Bei schwereren Herzen war der Anteil lebender Zellen im Perikard geringer. Das Perikard eines um 100 g schwereren Herzens wies 7,4% weniger lebende Zellen auf.

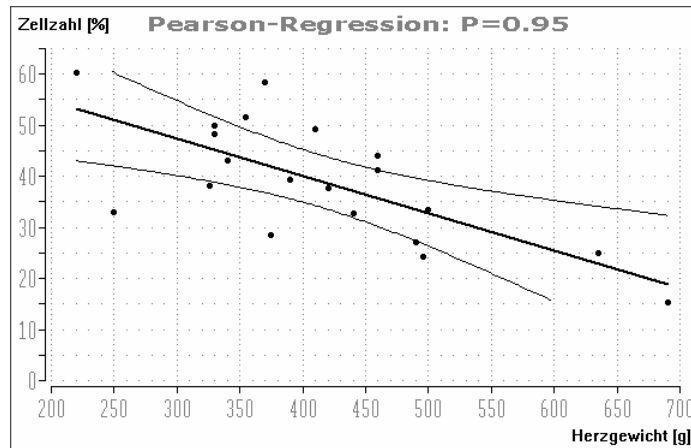


Abb. 32: Regressionsgerade; Einfluss des Herzgewichts in Gramm auf den Anteil lebender Zellen in Prozent; Überschreitungswahrscheinlichkeit $p < 0,001$; Regressionskoeffizient $b = -0,074$

3.3.5 Geschlecht

Ein möglicher Einfluss des Geschlechts auf den Anteil lebender Zellen in der Perikardprobe wurde am Perikard von 15 Männern und 5 Frauen untersucht.

Im Median war bei Frauen ein Anteil von 97% der Zellen vital, bei Männern 45%. Dieser Unterschied war nicht signifikant ($p = 0,866$).

4 Diskussion

Hauptziel dieser und der vorangegangenen Arbeiten von ENGELHARDT (2000) und STORCH (2002) war es, die mechanischen Eigenschaften bradytropher Gewebe zu Transplantationszwecken zu untersuchen. Hierfür wurden die Gewebe mit einer Zugfestigkeitsprüfmaschine bis zum Zerreißen gedehnt. Die Kraft- Dehnungs- Kurve, die Maximalkraft beim Reißen und die prozentuale Dehnung bei einer Krafteinwirkung von 10 Newton wurden aufgezeichnet. Die angewandte Methode wird auch von der Firma Tutogen, die sich mit der Aufbereitung von allogenen und xenogenen Gewebetransplantaten (Tutoplast®) beschäftigt, unter anderem zu Qualitätskontrollen benutzt. In den oben genannten Arbeiten und bei dieser Untersuchung hat sich die Methode bewährt. Sie ist ausgereift und kann weiterhin sinnvoll zur Beurteilung der mechanischen Eigenschaften von Gewebeprobe angewendet werden.

4.1 Bewertung des Untersuchungsmaterials

Es stellt sich die Frage, ob es vorteilhaft ist, humanes Gewebe zur Transplantation zu nutzen oder ob man auch auf xenogenes oder synthetisches Material zurückgreifen kann. Es liegen bereits Erfahrungen mit alternativen Materialien vor, die kontrovers diskutiert werden:

Synthetische Materialien stellen nach Implantation einen Fremdkörper dar und können eine Entzündungsreaktion auslösen. Postoperativ zeigt sich nach dem Einsatz synthetischer Materialien eine höhere Rate an Infektionen als dies nach Verwendung biologischer Materialien der Fall ist (PALESE u. BURNETT 2001).

Nach Implantation einer rein kollagenen Matrix allogener oder xenogener Herkunft bleiben immunologische Abstoßungsreaktionen aus. PESCH et al. (1989) konnten zeigen, dass nach Implantation von allogenen Gehörknöchelchen bei Kaninchen nach 1½ Jahren die Implantate form- und volumenkonstant eingeheilt waren. Bis zu 70% des Implantates waren durch körpereigenen Knochen ersetzt worden. Anzeichen für Abstoßungsreaktionen waren nicht vorhanden.

Autologes Gewebe zeigt keine Abstoßungsreaktionen und heilt gut ein. Nachteilig an der Verwendung autologer Gewebe sind das zusätzliche Trauma des Patienten durch die Entnahme und die limitierte Menge an entnehmbarem Gewebe (PESCH 2006).

Bei Verwendung xenogener Materialien besteht die Gefahr der Übertragung tierpathogener Keime auf den Menschen. CHOE u. BELL (2004) konnten nach Gefriertrocknung und Bestrahlung xenogener Haut und Fascia lata DNA in den Proben nachweisen. Beide Methoden, wie auch ihre Kombination, sind dazu gedacht genetisches Material aus dem Transplantat zu entfernen, um der Übertragung genetischer Information vorzubeugen.

Im Zusammenhang mit der Transplantation von allogenen oder xenogenem Gewebe wurde während der letzten Jahre die Übertragbarkeit der Creutzfeldt- Jakob- Erkrankung (CJD) verstärkt diskutiert, wobei eine mögliche Übertragung der Creutzfeldt- Jakob- Erkrankung durch die Transplantation von Dura mater (PREUSSER et al. 2006, MOCHIZUKI et al. 2003, CROES et al. 2001; HANNAH et al. 2001, LISCIC et al. 1999) gesichert scheint. Der erste beschriebene Fall einer CJD nach Dura mater Transplantation stammt aus dem Jahr 1987 (BOUTOLEAU 2003). Bis zum Jahr 2000 wurden 114 Fälle der CJD nach Transplantation von Dura mater beschrieben (BROWN et al. 2000). SATO (2003) beschreibt bis November 2003 156 Fälle. Weiter wurden bis 2000 3 Fälle der CJD nach Cornea Transplantation bekannt (PAULI 2005).

Experimentell konnte belegt werden, dass hoch infektiöse Gewebe die Prionen-assoziierte CJD übertragen können (PAULI 2005; TANGE et al. 1990). Die klassische Form der CJD ist nur übertragbar, wenn direkt Hirnmaterial oder Dura mater transplantiert werden (PAULI 2005).

In der Literatur wird ein Fall von CJD nach Tympanoplastik mittels Perikard- Patch beschrieben, wobei die Übertragung durch das Transplantat nicht gesichert ist (EASTLUND 1995). Einige andere Autoren empfehlen die Verwendung von Perikard statt Dura mater, um einer Infektion mit der CJD vorzubeugen (GUPTA et al. 2002; FILIPPI et al. 2000).

Eine weitere Möglichkeit, das Übertragungsrisiko zu verkleinern, besteht in der Selektion der Spender. Bereits 1997 wurde von einer WHO- Konsultation empfohlen, zukünftig keine Leichen- Dura zur chirurgischen Deckung von Defekten zu verwenden (SHIMIZU et al. 1999). Außerdem wird gefordert keine Personen mit neurologischen

oder psychiatrischen Erkrankungen als Spender zuzulassen (PARIZEK et al. 1997; PAULI 2005; RADBAUER et al. 1998).

Unter den genannten Aspekten scheint der Einsatz humanen Gewebes zu Transplantationszwecken der sicherste und patientenorientierteste Weg zu sein.

Die European Association of Tissue Banks (EATB) erlaubt die Entnahme von humanen Geweben nur in einem Intervall von 24 Stunden nach dem Tod. Falls die Leiche nicht 4 bis 6 Stunden nach dem Tod gekühlt wird, verkürzt sich das Entnahmeintervall auf 12 Stunden (EATB 2004). Eine Verlängerung dieser Zeitspanne würde zu einer höheren Anzahl potentieller Gewebespenden führen. Die Befristung der Entnahmezeit von Geweben stützt sich im wesentlichen auf zwei Aspekte: Zum einen wird davon ausgegangen, dass es nach einer Leichenliegezeit von mehr als 24 Stunden zu biomechanischen Einbußen bei den Geweben kommen könnte, zum anderen wird befürchtet, dass sich eine längere Leichenliegezeit negativ auf die Nachweisbarkeit pathogener Keime auswirken könnte.

4.2 Nachweisbarkeit pathogener Keime bei längerer Leichenliegezeit

Die Nachweisbarkeit pathogener Keime in Abhängigkeit von der Leichenliegezeit war nicht Gegenstand dieser Arbeit. Dennoch soll kurz auf diesen Aspekt eingegangen werden. In der überschaubaren Literatur sind keine wissenschaftlichen Studien zu diesem Thema zu finden. Auf eine Anfrage beim Institut für medizinische Virologie der Johann Wolfgang Goethe - Universität wurde mitgeteilt, dass falsch negative Testergebnisse hinsichtlich viraler Kontaminationen bei Leichenliegezeiten von mehreren Tagen bis Wochen denkbar sind (RABENAU 2008). Bei einem Virennachweis mit Hilfe von Zellkulturen als Indikator könnten Zersetzungsprodukte des Untersuchungsgewebes toxische Reaktionen bei den Zellkulturen auslösen und die Auswertung verhindern. Außerdem können Viren ihre Infektiosität durch die veränderten Milieubedingungen in degenerierendem Gewebe einbüßen, was den Nachweis mit Zellkulturen ebenfalls erschweren würde. Der direkte Nachweis von viralen Nukleinsäuren im Gewebe könnte durch Zersetzungsprozesse nach längerer Leichenliegezeit ebenfalls negativ beeinflusst werden, da ein Abbau viraler Nukleinsäuren durch DNase- beziehungsweise RNase- Aktivität nicht ausgeschlossen

werden kann, was ebenfalls zu falsch negativen Ergebnissen führen würde. Somit ist die Frage der Nachweisbarkeit von pathogenen Keimen nach längerer Leichenliegezeit letztlich nicht geklärt und weiteren Untersuchungen vorbehalten.

4.3 Einfluss der Leichenliegezeit auf die biomechanischen Eigenschaften von Perikard

Nach Angabe von Dipl.- Phys. Hans Joachim Mönig (Geschäftsführer der EATB) gibt die EATB zur Begründung der befristeten Entnahmezeit von Geweben eine mögliche Minderung der biomechanischen Eigenschaften bei einer Leichenliegezeit über 24 Stunden an (MOENIG 2007). Diese Entnahmefrist von 24 Stunden ist nicht wissenschaftlich belegt.

In den Arbeiten von STORCH (2002) und ENGELHARDT (2000) konnte für die bradytrophen Gewebe Dura mater und Fascia lata gezeigt werden, dass 120 Stunden nach dem Tod die Reißfestigkeit und die Dehnbarkeit des Gewebes nicht signifikant eingeschränkt waren. Die untersuchten Proben könnten unter mechanischen Aspekten zur Transplantation genutzt werden.

Bei den hier beschriebenen Untersuchungen des Perikards (s. Ergebnisse 3.2.1- 3.2.7) ließ sich ebenfalls kein signifikanter Einfluss der Leichenliegezeit auf die Maximalkraft beim Zerreißen der Probe oder die prozentuale Dehnung bei 10 Newton feststellen. Die mittlere Reißkraft der untersuchten Perikardproben lag mit 53,4 Newton über dem von der Firma Tutogen angegebenen Wert von 42 Newton (Tutogen, Tissue & Service® Technische Information 4/2000). Im Median zerrissen die Proben bei 47,5 Newton. Bei der Maximalkraft beim Reißen zeigte sich eine große Streuung (Max.: 106,6 Newton; Min.: 23 Newton). Aus beiden Ergebnissen lässt sich folgern, dass alle untersuchten Proben den mechanischen Ansprüchen für eine etwaige Transplantation gerecht wurden. Anhand der Regressionsgerade (Abb. 13, S. 21) kann man erkennen, dass statistisch gesehen die Zerreißkraft von 42 Newton etwa nach einer Leichenliegezeit von 220 Stunden unterschritten würde. Allerdings ist diese Aussage lediglich tendenziell, nicht signifikant.

Die Maximalkraft beim Reißen war von der Perikarddicke, dem Alter der verstorbenen Person und dem Geschlecht des Spenders signifikant abhängig. Eine um 0,1 mm dickere Perikardprobe zeigte eine um 7,2 Newton höhere Widerstandskraft bis zum Zerreißen. Die Reißfestigkeit des Perikards sank pro Lebensjahr um 0,84 Newton; das Perikard von Männern war im Median um 12,3 Newton widerstandsfähiger und um 0,04 mm dicker als das von Frauen.

Die Dicke des Perikards scheint für die Reißfestigkeit der ausschlaggebende Parameter zu sein. Diese Beobachtung stimmt mit Untersuchungen von HORT und BRAEUN (1962) überein, die eine altersabhängige Atrophie des Perikards beschrieben haben. Sie stellten bei über 70-jährigen eine um 19% geringere Wandstärke des Perikards gegenüber der Gruppe der 20– 59-jährigen fest. Außerdem fanden sie geschlechtsbezogene Unterschiede in den Wanddicken bei über 70-jährigen. Das Perikard von Frauen war im Mittel um 20% dünner als bei Männern.

Leichenliegezeit, Probendicke und Geschlecht zeigten keinen signifikanten Einfluss auf die prozentuale Dehnung bei einer Kraft von 10 Newton. Die Dehnbarkeit des Gewebes nahm jedoch mit steigendem Lebensalter signifikant ab (Abnahme der Dehnbarkeit um 0,029% pro Lebensjahr). Die Dehnbarkeit des Perikards wird durch kollagene und elastische Fasern bestimmt. Im Alter kommt es zu degenerativen Veränderungen der Fasern. Die kollagenen Fasern werden hyalin umgebaut und weisen nicht mehr die in 1.1 beschriebene wellige Form auf. Die Anzahl elastischer Fasern sinkt (HORT BRAEUN 1962). Diese altersbedingten Veränderungen des Bindegewebes sind vermutlich für die geringere Dehnbarkeit des Perikards im Alter verantwortlich.

Die Aufbewahrungsdauer der Proben hatte keinen signifikanten Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften des Perikards. Die Proben wurden bis zur Testung bei 4°C in einer 26%igen Kochsalzlösung aufbewahrt. Eine Lagerung entnommener Proben bis zur Weiterverarbeitung scheint also über längere Zeit möglich (in dieser Untersuchung betrug die längste Lagerung 145 Tage).

Der Body- Mass Index hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Biomechanik des Perikards. Das Herzgewicht zeigte keine signifikanten Einflüsse auf die mechanischen Eigenschaften des Perikards und die Perikarddicke. Das Herzgewicht war bei Männern im Median um 40 g schwerer ($p= 0,03$). Es konnte eine signifikante Abhängigkeit des

Herzgewichts vom Body- Mass Index festgestellt werden. Mit steigendem Lebensalter nahm das Herzgewicht signifikant zu (1,16 g pro Jahr). Diese Ergebnisse decken sich mit der Beobachtung von HORT und BRAEUN (1962), dass die Wanddicke des Perikards bei Hypertrophie des Herzens nicht zunimmt. Begleiterkrankungen der Adipositas wie eine arterielle Hypertonie können eine Hypertrophie des Myokards bewirken, wodurch das Herzgewicht zunimmt. Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften sind bei gleich bleibender Dicke des Perikards, wie oben beschrieben, nicht zu erwarten.

Wie in 3.2.8 beschrieben, gibt es keine Unterschiede der Biomechanik bei unterschiedlichen Entnahmestellen am Perikard. Das Gewebe kann also richtungsunabhängig als Transplantat genutzt werden. Auffällig war ein signifikanter Einfluss der Leichenliegezeit auf die Maximalkraft beim Reißen der Proben aus dem cranialen, transversalen Bereich des Perikards. Für die anderen Entnahmeorte und die Betrachtung der Mittelwerte aller Proben aus einem Perikard konnte dieser Einfluss nicht gezeigt werden. Dass die Leichenliegezeit gerade im cranialen, transversalen Bereich eine Minderung der Reißfestigkeit bewirkt, ist schwer verständlich. Falls im cranialen Anteil des Perikards beispielsweise autolytische Vorgänge schneller einsetzen sollten als im caudalen, müsste das auch auf die longitudinalen Proben aus dem cranialen Anteil zutreffen. Da diesem Ergebnis eine geringe Probenzahl von 53 zu Grunde lag, müsste geprüft werden, ob das Ergebnis bei einer größeren Probenzahl reproduziert werden kann.

Bei der mikroskopischen Betrachtung konnte kein Einfluss der Leichenliegezeit auf die Textur des Gewebes festgestellt werden. Dies entspricht den Ergebnissen der mechanischen Testung. Eine mikroskopisch zu erkennende Veränderung der Kollagenstruktur oder eine Rarefizierung des Kollagengehalts würde mit einer schlechteren Mechanik des Gewebes einhergehen.

4.4 Bestimmung des Anteils vitaler Zellen in den Perikardproben

Um den Anteil vitaler Zellen in den untersuchten Perikardproben festzustellen, wurde der Laktatdehydrogenase (LDH) Cytotoxicity Kit der Firma Roche genutzt, der zur Kontrolle der Vitalität von Zellen in Zellkulturen gedacht ist.

In Vorversuchen konnten gute Ergebnisse für die untersuchten Perikardproben erzielt werden. In allen Proben ließ sich LDH nachweisen. Da die LDH lediglich intrazellulär vorliegt, erklären sich die gemessenen Werte vor Zusatz des Detergens durch bereits abgestorbene Zellen oder Zelldefekte, die beim Zuschneiden der Probenstücke entstehen können. Nach Zusatz des Detergens Triton X 100 stieg die LDH Aktivität an. Triton X 100 lysiert Zellmembranen, wodurch die LDH noch vitaler Zellen ebenfalls freigesetzt wird. Die Differenz der LDH- Aktivitäten nach und vor Tritonbehandlung entspricht der Anzahl lebender Zellen.

Es fand sich eine signifikante Abhängigkeit des Anteils vitaler Zellen von der Leichenliegezeit. Dies stimmt mit der mikroskopischen Untersuchung der Fibroblasten überein. Nach längerer Leichenliegezeit waren die Fibroblasten in den Präparaten zum größten Teil optisch nekrotisch. Bei einem größeren Anteil nekrotischer Zellen lässt sich durch Detergens- Zusatz die LDH Aktivität in geringerem Maße steigern. Die mikroskopische Untersuchung und der LDH- Test weisen auf einen Zellverlust bei steigender Leichenliegezeit hin, die allerdings keinen Einfluss auf die biomechanischen Eigenschaften des Perikards haben. Die biomechanischen Eigenschaften des Gewebes werden, wie oben beschrieben, vor allem durch die kollagenen Fasern und in geringerem Grad von den elastischen Fasern bestimmt. Die gute Korrelation der Leichenliegezeit mit dem Anteil vitaler Zellen könnte man sich zur Leichenliegezeitbestimmung nutzbar machen. In der Rechtsmedizin ist die Frage nach dem genauen Todeszeitpunkt von essentieller Bedeutung. Es gibt zwar verschiedene Möglichkeiten auf den Zeitpunkt des Todes rückzuschließen, doch es fehlt eine exakte Methode.

GOS und RASZEJA (1993) untersuchten in Leberstücken Verstorbener die Aktivitätsänderungen der Laktat- und Malatdehydrogenase. Die Proben wurden jeweils bei -3, 2, 7, 12, und 17°C 35 Tage gelagert. In den ersten 14 Tagen wurde die Enzymaktivität täglich bestimmt, anschließend alle 7 Tage.

Sie konnten eine Aktivitätsabnahme der LDH und MDH bei längerer Aufbewahrung zeigen. Diese korrelierten gut mit der Leichenliegezeit. Außerdem war die Aktivitätsabnahme temperaturabhängig. Die bei 17°C aufbewahrten Proben zeigten den raschesten Abfall der LDH- Aktivität. Es bleibt weiteren Arbeiten vorbehalten zu prüfen, in wie weit die Bestimmung der Zellzahl mittels LDH- Aktivität zur Bestimmung der Leichenliegezeit anwendbar ist. Wie die Arbeit von GOS und RASZEJA (1993) zeigt, ist eine starke Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur der Leiche zu erwarten. Weiter muss untersucht werden, ob die Detergens- Zugabe wirklich alle vorhandenen Zellmembranen lysiert.

Lebensalter, Body- Mass Index und Geschlecht hatten keinen Einfluss auf den Anteil vitaler Zellen, während bei steigendem Herzgewicht eine signifikante Abnahme der Zellzahl im Perikard beobachtet wurde. Möglicherweise kommt es bei steigendem Herzgewicht zu einer Vermehrung von Bindegewebe im Perikard bei gleich bleibender Zellzahl.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass die Leichenliegezeit keinen signifikanten Einfluss auf die biomechanischen Eigenschaften des Perikards hat.

Unter mechanischen Aspekten wäre demnach eine Verlängerung der Entnahmefrist über 24 Stunden nach dem Tod möglich. Zu diesem Ergebnis kommen auch ENGELHARDT (2000) und STORCH (2002) für Dura mater und Fascia lata.

Es gibt keine genauen Zahlen zu Spenderangebot und Nachfrage. Allerdings schränkt eine Entnahmefrist von 24 Stunden die Anzahl möglicher Spender stark ein. Weiterhin machen eine rückläufige Sektionstätigkeit in den rechtsmedizinischen Instituten und die fortbestehenden Persönlichkeitsrechte nach dem Tod eine Gewebeentnahme zusätzlich schwierig. Gerade in der Rechtsmedizin ist eine Abklärung, ob der Verstorbene in eine Gewebespender eingewilligt hat (Organspendeausweis) oder die Einholung des Einverständnisses durch Dritte in 24 Stunden kaum zu bewerkstelligen. Somit würde die Erweiterung der 24- Stunden Frist durch den europäischen Gesetzgeber das potentielle Spenderaufkommen erhöhen.

Wie schon bei der Vorstellung erster Ergebnisse bei der 35. Tagung der Oberrheinische Rechtsmediziner 2005 in Basel dargestellt, bleibt zu prüfen inwiefern die beschriebene Aktivitätsmessung der LDH als Instrument zur Leichenliegezeitbestimmung nutzbar gemacht werden kann.

5 Zusammenfassung

Humanes Perikard kann in vielen chirurgischen Bereichen zu Transplantationszwecken genutzt werden, da keine Abstoßungsreaktion beim Empfänger erfolgt und das Gewebe durch funktionelles, körpereigenes Gewebe ersetzt wird.

Die Entnahme humanen Gewebes wird durch das „Gesetz über die Spende, Entnahme und Übertragung von Organen und Geweben (Transplantationsgesetz – TPG)“ und Richtlinien der European Association of Tissue Banks (EATB) geregelt. Von der EATB wurde ein Intervall von 24h nach dem Tod zur Entnahme menschlicher Gewebe festgelegt. Dieses Intervall verkürzt sich auf 12 Stunden, falls die Leiche nicht innerhalb von 4 bis 6 Stunden postmortal gekühlt wird.

In der vorliegenden Arbeit wurden humane Perikardproben mit einer Zugfestigkeitsprüfmaschine bis zum Zerreißen gedehnt. Gemessen wurden die Maximalkraft beim Reißen der Probe und die prozentuale Dehnung bei einer Kraftereinwirkung von 10 N.

Die Ergebnisse zeigen keinen signifikanten Einfluss der Leichenliegezeit auf die biomechanischen Eigenschaften des Perikards.

Die Probendicke, das Lebensalter und das Geschlecht zeigten signifikante Einflüsse auf die Reißfestigkeit des Perikards. Die höchste Reißfestigkeit konnte bei dicken Proben, bei einem jungen Alter der Verstorbenen und dem männlichen Geschlecht gemessen werden.

Unter mechanischen Aspekten gibt es keine Bedenken das Intervall von 24 Stunden zu verlängern. Eine Verlängerung der Entnahmefrist würde die Anzahl potentieller Spender erhöhen und somit das Angebot humaner Gewebetransplantate steigern.

Weiter wurde der Anteil vitaler Zellen in den Perikardproben mit dem Cytotoxicity detection Kit der Fa. Roche bestimmt. Hierbei wird das Gewebe in Phosphatpuffer aufgenommen und die Aktivität der Laktatdehydrogenase (LDH) im Überstand ermittelt.

Durch die Bestimmung der LDH- Aktivität vor und nach Zugabe eines Zellmembran-lysisierenden Detergens konnte auf den Anteil vitaler Zellen einer Probe indirekt geschlossen werden.

Es zeigte sich eine gute Korrelation der Leichenliegezeit mit der Anzahl vitaler Zellen im Perikard. Diese Methode könnte man zur Bestimmung der Leichenliegezeit nützen. Man hätte damit in der Rechtsmedizin ein einfaches Instrument zur Bestimmung mittlerer und längerer Leichenliegezeiten. In weiteren Untersuchungen müsste die Methode validiert und eventuell auch auf andere Gewebe ausgedehnt werden.

6 Summary

Human pericardium can be used in many surgical areas for transplantation because it does not evoke a graft versus host reaction in the recipient and is replaced by functional tissue.

The removal of human tissue is strictly governed by the statutes and guidelines of the European Association of Tissue Banks (EATB). The EATB has established an interval of 24 hours after death within which human tissue may be transplanted. This interval is curtailed to 12 hours if the body is not cooled between 4 and 6 hours after death.

In this study, specimens of human pericardium were stretched to breaking point and the maximum force determined. In addition, the maximum stretching at a given force of 10 Newton was evaluated. The results demonstrated no significant effect of the post-mortem time interval on the biomechanical quality of pericardium.

Specimen thickness and age and sex of the donor had a significant effect on the maximum breaking point load. The highest stability was measured in thick specimens, in those obtained from young deceased and of male sex.

Concerning the biomechanical aspects, there are no objections to prolonging this interval of 24 hours. A prolonged interval could increase the number of potential donors, thus increasing the availability of human transplants.

Samples of human pericardium were tested for vital cell number with a Cytotoxicity detection Kit, based on the activity of lactate dehydrogenase (LDH). LDH activity is measured before and after addition of a detergent which lyses cell membranes, thus giving an indirect assessment of vital cell number.

There was a good correlation between post-mortem interval and number of vital cells. This method could be useful for determining time of death. This test could be a simple instrument for forensic physicians to determine the exact time of death after longer periods between death and discovery of the body. The method would have to be validated for other tissues.

7 **Literatur**

AGARWALA N, COHN A (2006)

Experiences with a xenograft (acellular bovine collagen matrix) in gynecologic fistula repairs

J Minim Invasive Gynecol. 13(5): 483-485

ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WALTER P (2004)

Molekularbiologie der Zelle, 4. Auflage, S. 1273-1278

Wiley- VCH- Verlag, Weinheim

AATB- AMERICAN ASSOCIATION OF TISSUE BANKS (2001)

Standards for Tissue Banking

American Association of Tissue Banks, 9. Auflage, Virginia

BOUTOLEAU C, GUILLON B, MARTINEZ F, VERCELLETTO M, FAURE A, FEVE JR (2003)

Iatrogenic Creutzfeldt- Jakob disease subsequent to dural graft: persisting risk after 1987
Eur J Neurol. 10(5): 521-523

BROWN P, PREECE M, BRANDEL JP, SATO T, MCSHANE L, ZERR I, FLETCHER A, WILL RG, POCCHIARI M, CASHMAN NR, D'AIGNAUX JH, CERVENAKOVA L, FRADKIN J, SCHONBERGER LB, COLLINS SJ (2000)

Iatrogenic Creutzfeldt- Jakob disease at the millenium

Neurology. 55(8):1075-1081

CHOE JM, BELL T (2004)

Genetic material is present in cadaveric dermis and cadaveric fascia lata

J Urol. 166(1):122-124

CROES EA, JANSEN GH, LEMSTRA AW, FRIJNS CJ, VAN GOOL WA, VAN
DUIJN CM (2001)

The first two patients with dura mater associated Creutzfeldt-Jakob disease in the
Netherlands

J Neurol. 248(10): 877-880.

DEBRUNNER W (1956)

Structure and function of human pericardium

Z Anat Entwicklungsgesch. 119(6): 512-537

EASTLUND T (1995)

Infectious disease transmission through cell, tissue, and organ transplantation: reducing
the risk through donor selection

Cell Transplant. 4(5): 455-477

EATB- EUROPEAN ASSOCIATION OF TISSUE BANKS (2004)

Common Standards for Tissues and Cells Banking

European Association of Tissue Banks (www.eatb.de)

ENGELHARDT M (2000)

Postmortale Veränderungen der Morphologie und der Biomechanik der Dura mater

Inaug. Diss. Frankfurt am Main

FILIPPI R, SCHWARZ M, VOTH D, REISCH R, GRUNERT P, PERNECZKY (2000)

Bovine pericardium for duraplasty: clinical results in 32 patients

Neurosurg Rev 24: 103-107

GOS T, RASZEJA S (1993)

Postmortem activity of lactate and malate dehydrogenase in human liver in relation to
time after death

Int J Legal Med. 106(1): 25-29

- GUPTA M, PURI P, RENNIE IG (2002)
Use of bovine pericardium as a wrapping material for hydroxyapatite orbital implants
Br J Ophthalmol. 86(3): 288-289
- HANNAH EL, BELAY ED, GAMBETTI P, KRAUSE G, PARCHI P, CAPELLARI S,
HOFFMAN RE, SCHONBERGER LB (2001)
Creutzfeldt-Jakob disease after receipt of a previously unimplicated brand of dura mater
graft
Neurology. 56(8): 1080-1083.
- HORT W (1964)
Morphological and physiological studies on the pericardium (I)
Med Welt. 13: 674-677
- HORT W, BRAEUN H (1962)
Studies on the dimensions, wall thickness and microscopic structure of the pericardium
in normal and pathological conditions
Arch Kreislaufforsch. 38: 1- 22
- LAUSBERG HF, AICHER D, LANGER F, SCHAFERS HJ (2006)
Aortic valve repair with autologous pericardial patch
Eur J Cardiothorac Surg. 30(2): 244-249
- LIPPERT H (2000)
Herzbeutel (Pericardium)
in: Lehrbuch Anatomie, 5. Auflage, S. 229– 230
Urban und Fischer; München, Jena
- LISCIC RM, BRINAR V, MIKLIC P, BARSIC B, HIMBELE J (1999)
Creutzfeldt-Jakob disease in a patient with a lyophilized dura mater graft
Acta Med Croatica. 53(2): 93-96

MANTERO S, PIETRABISSA R, MOTTA A, FERRARI M, BERCHIOLLI R 1996
A new pericardium vascular prosthesis: mechanical behaviour, SEM analyses and
clinical indications
Int J Artif Organs. 19(6): 372-378

MOCHIZUKI Y, MIZUTANI T, TAJIRI N, OINUMA T, NEMOTO N, KAKIMI S,
KITAMOTO T (2003)
Creutzfeldt-Jakob disease with florid plaques after cadaveric dura mater graft
Neuropathology. 23(2): 136-140

MOENIG HJ
Persönliche Mitteilung vom 21.08.2007
Administrative Director EATB, Berlin

PALESE MA; BURNETT AL (2001)
Corporoplasty using pericardium allograft (tutoplast) with complex penile prosthesis
surgery
Urology 58(6): 1049-1052

PARIZEK J, MERICKA P, HUSEK Z, SUBA P, SPACEK J, NEMECEK S,
NEMECKOVA J, SERCL M, ELIAS P. (1997)
Detailed evaluation of 2959 allogeneic and xenogeneic dense connective tissue grafts
(fascia lata, pericardium, and dura mater) used in the course of 20 years for duraplasty in
neurosurgery
Acta Neurochir 139(9): 827-838

PAULI G (2005)
Tissue safety in view of CJD and variant CJD.
Cell Tissue Bank. 6(3): 191-200

PESCH HJ (2006)
Schicksal von avitalen und konservierten Transplantaten des Binde-/ Stützgewebes
4. Frankfurter Symposium Gewebetransplantation, 23.06.06, Frankfurt am Main

PESCH HJ, BEHBEHANI A, MEES K (1989)

Ossification of allogeneic solvent preserved ossicle transplants. Comparative histomorphologic studies in an animal experiment and human explants
Biomed Tech (Berl). 34 Suppl: 175-176

PETRIDES PE (1998)

Binde- und Stützgewebe

in: Löffler G, Petrides PE: Biochemie und Pathobiochemie, 6. Auflage, S. 734- 759
Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

PREUSSER M, STRÖBEL T, GELPI E, EILER M, BROESSNER G,

SCHMUTZHARD E, BUDKA H (2006)

Alzheimer- type neuropathology in a 28 year old patient with iatrogenic Creutzfeldt-
Jakob disease after dural grafting

J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr. 77: 413-416

RABENAU HF (2008)

Persönliche Mitteilung vom 28.01.2008

Institut für Medizinische Virologie der Johann Wolfgang Goethe- Univerität Frankfurt
am Main

RADBAUER C, HAINFELLNER JA, GAUDERNAK T, DEECKE L, BUDKA H.

(1998)

Creutzfeldt-Jakob disease in a dura transplant recipient: first observation in Austria

Wien Klin Wochenschr. 110(13-14): 496-500

SATO T (2003)

Infectious prion disease: CJD with dura mater transplantation

Rinsho Shinkeigaku 43(11): 870-872

SCHIEBLER, SCHMIDT, ZILLIES (1997)

Perikard, Herzbeutel

in: Anatomie, 7. Auflage, S. 523-524

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

SHIMIZU S, HOSHI K, MURAMOTO T, HOMMA M, IRONSDIE JW, KUZUHARA S, SATO T, YAMAMOTO T, KITAMOTO T. (1999)

Creutzfeldt-Jakob disease with florid-type plaques after cadaveric dura mater grafting
Arch Neurol. 56(3): 357-362

STORCH N (2002)

Zum postmortalen Qualitätsverlust der Fascia lata zu Transplantationszwecken
Inaug. Diss. Frankfurt am Main

TANGE RA, TROOST D, LIMBURG M (1990)

Progressive fatal dementia (Creutzfeldt- Jakob disease) in a patient who received
homograft tissue for tympanic membrane closure
Eur Arch Otorhinolaryngol. 247(4): 199-201

TRANSPLANTATIONSGESETZ vom 04.09.2007

Gesetz über die Spende, Entnahme und Übertragung von Organen und Geweben
(Transplantationsgesetz – TPG)
BGBl I: S. 2631

TUTOGEN (1999)

Tutoplast® Dura mater, Fascia lata, Pericardium Produktinformation
Tutogen Medical GmbH, Produktinformation, Neunkirchen am Brand

TUTOGEN (2000)

Tissue & Service Konservierung allogener und autogener Gewebe nach dem
Tutoplast®- Verfahren zur Reimplantation
Broschüre, Neunkirchen am Brand

URBACH V, LINDEMANN M, PAOLUCCI V (2006)

Bovines Perikard – ein Biomaterial zur operativen Versorgung von Hernien
Zentralbl Chir. Jahrgang 131, Heft 03

WILLITAL GH; LEHMANN RR (2000)

Bauchdeckenchirurgie

In: Willital GH, Lehmann RR: Chirurgie im Kindesalter

Spitta Verlag, Balingen, 1. Auflage, S. 817-818

8 Anhang

- Probandendaten biomechanische Prüfung (S. 55- 59)
- Messergebnisse und gemessene Daten der biomechanischen Prüfung (S. 60- 60)
- Probandendaten LDH- Test (S. 62- 63)
- Messergebnisse und gemessene Daten des LDH- Tests (S. 64)

Leichendaten biomechanische Prüfung

Abkürzungen:

AP - Arbeitsplatz Str. - Strasse Whg. - Wohnung
 JVA - Justizvollzugsanstalt TU - Todesursache
 KH - Krankenhaus VU - Verkehrsunfall

(sortiert nach Sektionsnummer)

Sekt. Nr.	Aufbewahrung (Tage)	Leichenliegezeit (Stunden)	Alter (Jahre)	m/w	Todeszeitpunkt	Entnahme	Auffindort	TU	Nebenleiden
1160/03	145d	55h 5min	78	m	11.11.03 06.55h	13.11.03 14.00h	KH	Herzversagen bei Cardiomegalie	-
1161/03	145d	etwa 50h	75	w	11.11.03 gg. morgen	13.11.03 11.30h	KH	Lungenembolie li	multiple Hirninfarkte, Arteriosklerose, Uterusmyom
1162/03	145d	48h 55min	51	m	11.11.03 13.05 h	13.11.03 14.00h	VU	Schädel- Hirn- Trauma, Fraktur d. Halswirbelsäule	-
1167/03	141d	etwa 63h	68	m	14.11.03 Abendstdn.	17.11.03 12.45h	Whg.	intracranielle Blutung	Arteriosklerose, Lipomatosis cordis, Fettleber, Nierenzysten, sklerosierte Koronararterien
1172/03	140d	9 ½ - 10h	46	w	18.11.03 zw. 04.30h u. 5.00h	18.11.03 14.30h	Whg.	Verbluten/ Messerstich	6 Quetschwunden im Kopfbereich
1176/03	139d	3h 5min	58	w	19.11.03 09.40h	19.11.03 12.45h	KH	Verbluten/ Messerstich	-
1179/03	138d	192h 54min	100	w	12.11.03 14.31h	20.11.03 15.25h	KH	Myokardinfarkt	alte Infarktnarbe, chron. Lungenemphysem, starke Arteriosklerose in Aorta u. Koronararterien
1180/03	138d	109h	77	w	15.11.03 21.15h	20.11.03 10.15h	KH	morphologisch nicht feststellbar, fragl. Linksherzversagen DD Insulinintoxikation	Koronarsklerose
1183/03	134d	89h 25min - 92 h 15min	78	w	20.11.03 zw. 17.00h u. 19.50h	24.11.03 13.15h	Whg.	Lungenembolie	Schlüsselbein- u. Rippenserienfraktur links Herzhypertrophie Ateminsuffizienz bei Rippenserienfraktur links, ältere Zwerchfellhernie rechts, leichter Hämatothorax
1184/03	137d	18h 21min	23	w	20.11.03 18.54h	21.11.03 13.15h	VU	Verbluten, stumpfes Thoraxtrauma	-

Sekt. Nr.	Aufbewahrung (Tage)	Leichenliegezeit (Stunden)	Alter (Jahre)	m/w	Todeszeitpunkt	Entnahme	Auffindort	TU	Nebenleiden
1193/03	134d	etwa 20h 40min	50	m	aufgefunden: 23.11.03 16.20h	24.11.03 13.00h	Whg.	Verbluten; pontines Angiom	Kardiomegalie
1194/03	133d	mind. 26h 25min	43	m	aufgefunden: 24.11.03 10.50h	25.11.03 13.15h	AP	Erstickung, Suizid	Herzhypertrophie
1205/03	127d	124h	79	w	26.11.03 9.00h	01.12.03 13.00h	VU	Kreislaufversagen und Lungenentzündung nach schwerem Polytrauma	-
1211/03	127d	etwa 72h	69	w	28.11.03 Morgenstdn.	01.12.03 11.30h	Whg.	Herzversagen	starke Arteriosklerose
1220/03	126d	92h 40min	79	w	28.11.03 17.20h	02.12.03 14.00h	Whg.	Lungenödem, Herzversagen	alte Infarkt Narbe
1224/03	124d	57h – 58h	76	w	02.12.03 zw. 4.00h und 5.00h	04.12.03 14.00h	Whg.	Herzbeutel tamponade, Herzversagen, Lungenödem	-
1226/03	125d	45h 52min	64	w	01.12.03 17.23h	03.12.03 15.15h	VU	Bänderabriss an Kopf und Hals, Einblutung in Brücke, Halsmark und Kleinhirn	Hämatothorax re, Rippenfraktur re.
1278/03	112d	97h 48min	40	m	12.12.03 11.52h	16.12.03 13.00h	VU	Schädel- Hirn- Trauma, Thoraxtrauma, Blutverlust	-
1279/03	112d	10h 11min	44	w	16.12.03 03.49h	16.12.03 14.00h	KH	Hirntod bei thrombotischem Geschehen	-
1288/03	109d	26h 55min	84	w	18.12.03 10.35h	19.12.03 13.30h	KH	schwere Verbrennung an Gesicht, Arm, Bein, Thorax, Abdomen links	-
1299/03	105d	16h 28min	19	m	22.12.03 22.12h	23.12.03 14.30h	VU	schweres Schädel- Hirn- Trauma mit Einblutung und Ödem	Lungenödem
1310/03	99d	348h 3min	40	m	15.12.03 00.42h	29.12.03 12.45h	KH	Hirnblutung mit Ventrikeleinbruch	Kardiomegalie
1318/03	98d	mind. 100h 45min	44	m	26.12.03 zw. 0.00h u 09.00 h	30.12.03 13.45h	Whg.	Kardiomegalie mit Blutstau d. inneren Organe/ fragl. Intoxikation	chron. C2 Abusus, Fettleber
13/04	91d	73h- 74h 40min	44	m	03.01.04 zw. 8.20h und 10.00h	06.01.04 11.00h	Whg.	Herzinfarkt	-
17/04	91d	70h 50min	25	w	03.01.04 14.40h	06.01.04 13.30h	VU	schweres Schädel- Hirn- Trauma mit Einblutung	-
77/04	70d	17h	71	m	26.01.04 20.30h	27.01.04 13.30h	Str.	Herzinfarkt	-

Sekt. Nr.	Aufbewahrung (Tage)	Leichenliegezeit (Stunden)	Alter (Jahre)	m/w	Todeszeitpunkt	Entnahme	Auffindort	TU	Nebenleiden
80/04	69d	14h 20min	22	m	27.01.04 22.10h	28.01.04 12.30h	Str.	Kreislaufversagen auf Grund Blutaspiration nach Schussverletzung	-
85/04	68d	46h	20	m	27.01.04 15.30h	29.01.04 13.30h	Str.	schweres Schädel- Hirn- Trauma	-
90/04	63d	113h 30min - 116h	82	w	29.01.04 zw. 18.20h u. 20.50h	03.02.04 14.20h	Whg.	Hirnfarkt	bds. Nierentumor; beginnende Lungenentzündung
104/04	63d	64h 40min	29	m	31.01.04 20.35h	03.02.04 13.15h	Whg.	Herzkreislaufversagen	-
111/04	61d	26h 43min	29	m	04.02.04 9.47h	05.02.04 12.30h	Whg.	akutes Herzversagen	-
126/04	57d	101h 1min	34	m	05.02.04 08.44h	09.02.04 13.45h	KH	V.a. Sepsis	-
141/04	53d	27h 30min	34	m	12.02.04 09.45h	13.02.04 13.15h	VU	Schädel- Hirn- Trauma	-
144/04	53d	72h 25min	66	m	10.02.04 11.50h	13.02.04 12.15h	KH	Herzversagen aufgrund Anaphylaxie	-
161/04	46d	49h 50min	63	m	18.02.04 11.40h	20.02.04 13.30h	VU	Herzversagen	-
162/04	47d	42h 5min	87	w	17.02.04 19.55h	19.02.04 14.00h	KH	Kreislaufversagen u. Nierenversagen	-
178/04	40d	115h 57min	26	m	21.02.04 17.33h	26.02.04 13.30h	KH	morpholog. nicht sicher zu beurteilen	-
213/04	27d	43h 22min	48	m	08.03.04 17.38h	10.03.04 13.00h	KH	Hirnmassenblutung	-
288/04	4d	48h 5min	55	w	31.03.04 13.15h	02.04.04 13.20h	KH	fulminante Lungenembolie bei TVT	-
393/04	105d	81h 15min - 85h 15min	48	w	30.04.04 0.00h- 4.00h	03.05.04 13.15h	KH	Herzkreislaufversagen bei Lungenembolie	-
407/04	104d	84h 55min	37	m	01.05.04 0.45h	04.05.04 13.40h	VU	Herzkreislaufversagen nach ausgeprägten Verletzungen im Thorax u. Abdomen	Fraktur d. Lendenwirbelsäule, Rippenserienfraktur li
431/04	96d	mind. 110h 30min	81	w	07.05.04 zwischen 20.30h und 23.30h	12.05.04 14.00h	VU	Blutverlust	-

Sekt. Nr.	Aufbewahrung (Tage)	Leichenliegezeit (Stunden)	Alter (Jahre)	m/w	Todeszeitpunkt	Entnahme	Auf-findeort	TU	Nebenleiden
437/04	94	etwa 30h	32	m	13.05.04 frühe Morgenstdn.	14.05.04 11.45h	Whg.	V.a. Intoxikation	-
438/04	94	43h 55min	45	m	12.05.04 17.35h	14.05.04 13.30h	KH	Rechtsherzversagen nach fulminanter Lungenembolie	-
446/04	91	18h 45min	18	m	16.05.04 16.15h	17.05.04 12.00h	VU	Verblutung nach stumpfer Gewalt	-
457/04	87	219h 40min – 224h 40min	41	m	12.05.04 zw. 02.50h u. 7.50h	21.05.04 11.30h	Whg.	morpholog. nicht feststellbar	-
474/04	81	154h 55min – 155h 35min	88	w	21.05.04 zw. 3.40h und 4.20h	27.05.04 15.15h	Whg.	morpholog. nicht feststellbar V.a. Intoxikation	-
493/04	76	85h 4min	18	m	30.05.04 01.26h	02.06.04 14.30h	VU	Schädel- Hirn- Trauma; Blutaspiration	-
509/04	71	98h 20min	63	w	03.06.04 09.10h	07.06.03 11.30h	VU	schweres Schädel- Hirn- Trauma mit Abriss des Hirnstamms	multiple Rippenfrakturen
520/04	69	116h 5min	31	w	04.06.04 17.55h	09.06.04 14.00h	KH	Thrombembolie	-
543/04	63	67h 36min	50	w	12.06.04 18.54h	15.06.04 14.30h	VU	Schädel- Hirn- Trauma; Blutaspiration	-
548/04	62	11h- 13h 15min	49	w	15.06.04 22.30h – 16.06.04 0.45h	16.06.04 11.45h	Whg.	Diazepam-, Methadon- Intoxikation	-
551/04	62	140h- 164h	76	m	09.06.04 17.00h – 10.06.04 17.00h	16.06.04 13.00h	Whg.	Verbluten , Ruptur eines thorakalen Aortenaneurysmas	koronare Herzerkrankung
552/04	61	25h 37min	20	m	16.06.04 11.03h	17.06.04 12.30h	Whg.	Drogenintoxikation	-
567/04	57	23h - 24h	42	m	20.06.04 13.30h – 14.30h	21.06.04 13.30h	JVA	Strangulation	-
602/04	45	101h 30min	58	m	28.06.04 08.30h	02.07.04 14.00h	KH	Lungenentzündung nach Schädel- Hirn- Trauma	-

Sekt. Nr.	Aufbewahrung (Tage)	Leichenliegezeit (Stunden)	Alter (Jahre)	m/w	Todeszeitpunkt	Entnahme	Auffindort	TU	Nebenleiden
603/04	42	89h 5min	20	m	01.07.04 20.25h	05.07.04 13.30h	VU	Schädel- Hirn- Trauma mit Einblutung	-
604/04	42	72h- 73h	53	m	02.07.04 zwischen 11.00h und 12.00h	05.07.04 12.00h	Str.	morpholog. nicht feststellbar; V.a. Intoxikation	-
611/04	41	48h 30min- 55h 45min	60	m	04.07.04 zw. 11.00h und 19.15h	06.07.04 11.30h	Whg.	Herzversagen bei Coronarsklerose	Bekannter Alkoholabusus
615/04	39	123h 40min – 142h	52	m	Zwischen 02.07.04 14.00h und 03.07.04 08.20h	08.07.04 12.00h	Whg.	Hirnblutung	-
620/04	35	14h 39min bis 18h	41	m	11.07.04 zwischen 18.00h und 21.21h	12.07.04 12.00h	Str.	Erdrosselung	-
622/04	35	46h 10min	39	m	10.07.04 14.20h	12.07.04 12.30h	KH	Schädel- Hirn- Trauma mit Einblutung	-
625/04	34	60h 45min – 66h 30min	21	w	10.07.04 zwischen 17.00h und 22.45h	13.07.04 11.30h	Whg	morpholog. nicht erfassbar	V.a. Krampfanfall
628/04	32	51h 44min	60	w	13.07.04 09.16h	15.07.04 13.00h	VU	Polytrauma, stumpfe Gewalt	-
631/04	33	46h 5min	22	m	12.07.04 14.55h	14.07.04 13.00h	AP	akutes Herzversagen	Pneumonie, Myokardhypertrophie
633/04	33	mind. 96h	81	m	10.07.04 morgens	14.07.04 12.00h	Whg.	HerzKreislaufversagen	Lungenembolie, Coronarsklerose
642/04	26	10h 45min	46	m	21.07.04 00.45h	21.07.04 11.30h	AP	Schädel- Hirn- Trauma mit Einblutung, Multiorganversagen	-
666/04	19	146h 30min bis 150h	62	w	22.07.04 zwischen 6.30h und 10.00h	28.07.04 12.30h	Whg.	V.a. frischer Hinterwandinfarkt	schwere allgemeine Arteriosklerose

Messergebnisse und gemessene Daten der biomechanischen Prüfung

(sortiert nach Sektionsnummer)

Sektionsnummer	Leichenliegezeit (Stunden)	Maximalkraft beim Reißen (Newton)	Dehnung bei 10N (%)	Dicke (Millimeter)	BMI	Herzgewicht (Gramm)
1160/03	55	29	8	0,69	34	730
1161/03	50	26,33	7,33	0,6	22	345
1162/03	49	40,5	6,5	0,65	33	570
1167/03	63	28,67	9,33	0,47	27	570
1172/03	10	74,25	5,25	0,55	40	480
1176/03	3	43,25	6	0,48	33	350
1179/03	193	23	6,25	0,45	25	370
1180/03	109	48,67	6	0,49	28	485
1183/03	91	23,25	8,5	0,46	25	480
1184/03	18	61,67	10	0,51	24	260
1193/03	21	53	5,5	0,61	31	550
1194/03	26	62,25	5	0,53	26	500
1205/03	124	35,75	5,25	0,53	25	420
1211/03	72	43,5	6	0,49	19	480
1220/03	93	31	6,25	0,37	19	400
1224/03	58	25,75	7,75	0,51	31	520
1226/03	46	35,5	5	0,41	30	305
1278/03	98	63	4,5	0,57	23	300
1279/03	10	43,4	5,4		22	260
1288/03	27	34	7,25	0,55	26	355
1299/03	16	91	10	0,63	32	380
1310/03	348	47,5	8	0,46	24	580
1318/03	101	40	7,5	0,61	27	650
13/04	74	49	9,25	0,69	27	400
17/04	71	61,5	7,75	0,55	25	245
77/04	17	40,25	6,75	0,65	28	610
80/04	14	78	10,75	0,5	26	380
85/04	46	94,25	9,75	0,58	28	375
90/04	115	32,8	6,2	0,58	23	420
104/04	65	79	8,5	0,56	24	420
111/04	26	78,75	7,75	0,57	27	410
126/04	101	44	8,75	0,58	25	425
141/04	28	102,75	4	0,53	33	450
144/04	72	45	5	0,56	24	490
161/04	50	35	9,67	0,47	25	490
162/04	42	40,75	5,5	0,55	24	360
178/04	116	75	6	0,5	24	440
213/04	43	51,25	5,75	0,59	23	440
288/04	48	32,5	7,5	0,53	47	420
393/04	83	50,85	4,72	0,44	28	520
407/04	85	81,69	5,06	0,55	23	300
431/04	111	35,3	6,59	0,43	32	600
437/04	30	49,3	5,53	0,33	27	350
438/04	44	76,62	5,58	0,6	21	460
446/04	19	89,17	6,96	0,52	20	270
457/04	223	62,85	4,29	0,45	27	490
474/04	155	32	4,35	0,42	29	420
493/04	85	97,41	7,96	0,53	29	345

Sektionsnummer	Leichenliegezeit (Stunden)	Maximalkraft beim Reißen (Newton)	Dehnung bei 10N (%)	Dicke (Millimeter)	BMI	Herzgewicht (Gramm)
509/04	98	34,8	4,89	0,51	30	350
520/04	116	89,84	5,88	0,58	29	355
543/04	68	43,04	4,6	0,45	24	310
548/04	12	74,82	5,18	0,57	23	370
551/04	152	27,76	5,02	0,41	22	380
552/04	26	76,1	12,7	0,52	24	450
567/04	24	44,21	6,57	0,62	28	430
602/04	102	47,48	5,49	0,53	20	400
603/04	89	106,56	6,84	0,66	27	470
604/04	73	42,48	5,56	0,62	24	
611/04	52	27,1	6,25	0,38	26	380
615/04	133	62,12	4,04	0,38	26	460
620/04	16	63,87	5,16	0,54	20	390
622/04	46	42,88	6,75	0,49	26	405
625/04	64	69,95	8,4	0,44	22	260
628/04	52	28,37	7	0,53	35	460
631/04	46	90,55	8,28	0,56	19	540
633/04	96	34,21	5,25	0,54	19	440
642/04	11	57,45	5,75	0,45	32	530
666/04	148	49,33	4,25	0,59	23	410

Leichendaten LDH- Test

Abkürzungen:

JVA - Justizvollzugsanstalt TU - Todesursache
 KH - Krankenhaus VU - Verkehrsunfall
 Str. - Strasse Whg. - Wohnung

(sortiert nach Sektionsnummer)

Sekt. Nr.	Leichenliegezeit (Stunden)	Alter (Jahre)	m/w	Todeszeitpunkt	Entnahme	Auf-finde-ort	TU	Nebenleiden
913-04	28h 30min	30	m	12.10.04 8.30h	13.10.04 13.00h	Whg.	morphologisch nicht erkennbar	
1070-04	60h 55min	68	m	28.11.04 23.35h	01.12.04 12.30h	Whg.	Va. Intoxikation	koronare Herzerkrankung, alter Myokardinfarkt
1071-04	29h- 30h 30min	57	m	30.11.04 6.00h- 7.30h	02.12.04 12.30h	Str.	Verbluten nach Innen	Leber- u. Milzruptur
1085-04	25h	41	m	02.12.04 12.00h	03.12.04 13.00h	Whg.	Linksherzversagen bei akutem Myokardinfarkt	
1105-04	109h 20min	63	m	04.12.04 21.10h	09.12.04 10.30h	Whg.	HerzKreislaufversagen bei koronarer Herzerkrankung	-
1144-04	54h 10min	56	m	18.12.04 7.20h	20.12.04 13.30h	JVA	Herzhypertrophie, Koronarsklerose	
03-05	27h 30min	26	m	02.01.05 9.45h	03.01.05 13.15h	Str.	Verbluten nach Innen	
20-05	57h- 60h ---59h	47	m	03.01.05 4.00h- 7.00h	05.01.05 16.00h	Whg.	morphologisch nicht erfassbar	V.a. zentrales Versagen bei V.a. Drogenintoxikation; Herzhypertrophie
83-05	14h 25min	48	m	24.01.05 0.05h	24.01.05 14.30	KH	Myokardinfarkt	schwere koronare Herzerkrankung
96-05	11h 43min	22	w	27.01.05 4.17h	27.01.05 16.00h	Str.	Verbluten	Herzinsuffizienz; Herzbeutelamponade
199-05	98h 30min	18	m	24.02.05 11.00h	28.02.05 13.30h	Str.	zentrales Versagen nach schwerem Schädel- Hirn- Trauma	

Sekt. Nr.	Leichenliegezeit (Stunden)	Alter (Jahre)	m/w	Todeszeitpunkt	Entnahme	Auf-finde-ort	TU	Nebenleiden
201-05	44h 45min	63	m	26.02.05 19.08h	28.02.05 15.45h	Flug- hafen	Herz-Kreislaufversagen bei ausgeprägter Koronarsklerose	
522/05	100h 50min	73	w	04.06.05 7.25h	08.06.05 12.15h	KH	zentrales Versagen nach intracranieller Blutung	
533/05	128h 20min	82	w	03.06.05 7.10h	08.06.05 15.30h	Whg.	Blutverlust bei gastro- intestinaler Blutung	
549-05	97h 1min	72	w	13.06.05 9.19h	17.06.05 10.20h	KH	morpholog. nicht feststellbar	Plasmozytom, Thrombopenie
572-05	8h	49	m	22.06.05 6.00h	22.06.05 14.00h	Str.	Verbluten	
641-05	124h 45min	77	m	13.07.05 7.45h	18.07.05 12.30	Whg.	zentrales Versagen nach Apoplex	
871-05	11h 22min	95	w	07.10.05 2.33h	07.10.05 13.45h	Whg.	Herzversagen	
879-05	33h 5min	38	m	10.10.05 5.55h	11.10.05 15.00h	VU	zentrales Versagen nach Schädel- Hirn- Trauma	
937/04	121- 123h	56	m	15.10.04 zw. 10.30h und 12.30h	20.10.04 13.30h	Whg.	Kopfschuss; zentrales Versagen	-

Messergebnisse und gemessene Daten des LDH- Tests

(sortiert nach Sektionsnummer)

Sektionsnummer	Leichenliegezeit (Stunden)	optische Dichte mit PBS	optische Dichte mit TritonX 100	Anteil lebender Zellen (%)	Alter (Jahre)	m/w	BMI	Herzgewicht (Gramm)
913/04	29	1,430 ± 0,215	1,876 ± 0,294	23,1	30	m	28	420
937/04	122	1,42 ± 0,181	1,577 ± 0,179	9,7	56	m	24	375
1070/04	61	1,712 ± 0,112	1,865 ± 0,109	8,2	68	m	27	635
1071/04	30	1,042 ± 0,296	1,627 ± 0,171	36,6	57	m	20	330
1085/04	25	1,111 ± 0,27	1,536 ± 0,203	27,7	41	m	25	460
1105/04	109	1,181 ± 0,173	1,353 ± 0,153	12,7	63	m	25	440
1144/04	54	0,708 ± 0,218	1,021 ± 0,242	29,8	56	m	24	390
03/05	28	0,818 ± 0,147	1,045 ± 0,164	20,1	26	m	21	500
20/05	59	0,561 ± 0,134	0,683 ± 0,061	17,3	47	m	22	490
83/05	14	0,729 ± 0,138	1,484 ± 0,116	51	48	m	24	370
96/05	12	0,489 ± 0,197	0,961 ± 0,229	51,1	22	w	26	220
199/05	99	0,806 ± 0,153	1,193 ± 0,062	32,1	18	m	22	340
201/05	45	1,318 ± 0,257	1,268 ± 0,230	0	63	m	40	690
522/05	101	1,044 ± 0,316	1,253 ± 0,339	17,2	73	w	41	496
533/05	128	1,264 ± 0,193	1,714 ± 0,168	26,5	82	w	21	326
549/04	97	0,903 ± 0,183	1,344 ± 0,174	33,3	72	w	22	460
572/05	8	0,942 ± 0,170	1,512 ± 0,150	37,8	49	m	29	410
641/05	125	1,358 ± 0,242	1,533 ± 0,128	12,5	77	m	14	250
871/05	11	1,231 ± 0,297	1,966 ± 0,262	38	95	w	26	355
879/05	33	1,118 ± 0,165	1,747 ± 0,157	36	38	m	24	330

8 Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. med. H. Bratzke bedanke ich mich für die Überlassung des Themas und die Betreuung der Arbeit. Besonders möchte ich für die vielen Anregungen und Hilfestellungen danken.

Ich bedanke mich bei meinem Vater, Prof. Dr. rer. nat. A. Bernd, für die Betreuung des LDH Tests, Hilfen bei Durchführung und Auswertung und für die Bereitstellung der benötigten Materialien.

Der Firma Tutogen Medical GmbH danke ich für die Möglichkeit die biomechanischen Tests in deren Labor durchzuführen. Insbesondere danke ich Herrn Dr. K. Koschatzky und Herrn Dr. A. Wilhelmi für die Anleitung zur Durchführung der Tests, die Betreuung vor Ort und das reichliche Informationsmaterial.

Herrn Dr. Ackermann vom biomathematischen Institut danke ich für die Hilfe und Anleitung der statistischen Auswertung.

Bedanken möchte ich mich bei den Sektionsgehilfen der Instituts für Rechtsmedizin Herrn Auer, Herrn Enders und Frau Eckholt für die Hilfe bei der Entnahme der Perikardproben.

Frau Elbert danke ich für die Hilfe bei der Anfertigung der histologischen Schnitte.

9 Lebenslauf

Am 11.09.1977 wurde ich als Sohn von Eveline Bernd, geborene Erff, und Prof. Dr. rer. nat. August Bernd in Bingen am Rhein geboren.

Von 1984 bis 1988 besuchte ich die Grundschule in Bingen- Kempten, anschließend von 1988 bis 1998 das Stefan- George- Gymnasium in Bingen. 1998 machte ich mein Abitur.

Im Jahr 2000 immatrikulierte ich mich an der Johann Wolfgang Goethe - Universität Frankfurt am Main im Fachbereich Humanmedizin. Nach bestandenen 3. Staatsexamen im November 2006 beendete ich mein Studium.

Seit Februar 2007 arbeite ich als Assistenzarzt an der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie der Johannes Gutenberg - Universität Mainz.

Frankfurt, 26.04.2008

10 Schriftliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die im Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe - Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Einfluss der Leichenliegezeit auf Biomechanik und Zellzahl von humanem Perikard

in dem Institut für Forensische Medizin unter Betreuung und Anleitung von Herrn Prof. Dr. med. H. Bratzke ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht.

Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Frankfurt, 26.04.2008