
Haare als Monitor der Ernährung - Ein Ansatz zur Klärung forensischer und historischer Fragestellungen

Sebastian Gruber

Dissertation der Fakultät für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München



München
eingereicht am 01.10.2019

Diese Dissertation wurde angefertigt
unter der Leitung von Prof. Dr. Gisela Grupe
im Bereich Anthropologie und Humangenetik
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

Erstgutachter: Prof. Dr. Gisela Grupe

Zweitgutachter: Prof. Dr. Herwig Stibor

Tag der Abgabe: 01.10.2019

Tag der mündlichen Prüfung: 10.01.2020

Die vorliegende Arbeit wurde durch ein Promotionsstipendium der Friedrich-Ebert-Stiftung gefördert.

ERKLÄRUNG

Ich versichere hiermit an Eides statt, dass meine Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte Hilfsmittel angefertigt worden ist.

Die vorliegende Dissertation wurde weder ganz noch teilweise bei einer anderen Prüfungskommission vorgelegt.

Ich habe noch zu keinem früheren Zeitpunkt versucht, eine Dissertation einzureichen oder an einer Doktorprüfung teilzunehmen.

München, den 22.09.2019

Sebastian Gruber

INHALTSVERZEICHNIS

I	Zusammenfassung	1
II	Einleitung.....	3
II.1	Relevanz des Forschungsvorhabens	3
II.2	Fragestellung und Zielsetzung.....	4
II.3	Historischer und soziokultureller Hintergrund	7
II.3.1	Unterernährung und Vernachlässigung als gesellschaftliches Problem.....	7
II.3.2	Verbrechen der Nationalsozialisten im Rahmen der ‚wilden Euthanasie‘	9
II.4	Informationsgehalt stabiler Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff.....	10
II.4.1	Grundlagen	10
II.4.2	Ernährungsrekonstruktion	10
II.4.3	Aminosäureanalysen und stabile Isotope	12
II.5	Stoffwechsel und (Fehl-)Ernährung	13
II.5.1	Ernährungsphysiologie.....	13
II.5.1.1	Energiebedarf und Energiespeicher	13
II.5.1.2	Energiebedarf bei älteren Menschen.....	15
II.5.1.3	Künstliche Ernährung	15
II.5.2	Diagnose der Fehlernährung	16
II.5.2.1	Terminologie des defizienten Ernährungsstatus	16
II.5.2.2	Klinische Hinweise und Anthropometrie.....	17
II.5.2.3	Laborchemische Verfahren	18
II.5.2.4	Apparative Verfahren.....	19
II.5.2.5	Diagnose mittels Analyse stabiler Isotope von Haaren	19
II.5.3	Hungerstoffwechsel.....	21
II.5.3.1	Essenzielle Nahrungsbestandteile	21
II.5.3.2	Phasen des Hungerstoffwechsels	24
II.5.4	Genetische Aspekte bei Haaranalysen zur Ernährungsrekonstruktion	26

II.6	Menschliches Gewebe als biologisches Quellenmaterial	26
II.6.1	Das Haar	26
II.6.1.1	Anatomie	27
II.6.1.2	Wachstum	28
II.6.1.3	Biochemische Zusammensetzung	30
II.6.1.4	Physiologie der Haare	31
II.6.1.5	Haare als Probenmaterial	33
II.6.2	Weitere Gewebeproben	34
III	Material und Methoden	36
III.1	Material	36
III.1.1	Rechtsmedizinische Proben	36
III.1.2	Haare von Zwillingspaaren	40
III.1.3	Haare von der archäologischen Grabung	40
III.1.4	Haarstandard	43
III.1.5	Überblick Versuchsanordnungen	43
III.1.5.1	Methodische Verbesserungen	44
III.1.5.2	Physiologische Grundlagenforschung	46
III.1.5.3	Genetische Einflüsse	46
III.1.5.4	Anwendung an einem historischen/forensischen Fall	46
III.2	Methoden	48
III.2.1	Probenvorbereitung	48
III.2.1.1	Rechtsmedizinische Proben	48
III.2.1.1.1	Haare	49
III.2.1.1.2	Fett	52
III.2.1.1.3	Muskel	52
III.2.1.1.4	Knochen	54
III.2.1.2	Haare von Zwillingspaaren	55

III.2.1.3	Haare aus archäologischen Quellen	56
III.2.1.4	Herstellung eines Haarstandards.....	56
III.2.2	Analyse der stabilen Isotope	57
III.2.3	Aminosäureanalysen	58
III.2.3.1	Hydrolyse.....	59
III.2.3.2	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	60
III.2.3.3	Auswertung.....	61
III.2.4	Statistische Auswertung.....	62
IV	Ergebnisse.....	63
IV.1	Methodische Verbesserungen.....	63
IV.1.1	Berücksichtigung der Wachstumsphasen bei der Probenvorbereitung	63
IV.1.2	Vergleich der Waschschritte	64
IV.1.3	Analyse stabiler Isotope	66
IV.1.3.1	Vergleich der neuen Probenvorbereitung mit der bisherigen Methode	66
IV.1.3.2	Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.....	68
IV.1.4	Aminosäureanalyse	70
IV.1.4.1	Hydrolyseverfahren.....	70
IV.1.4.2	Haarstandard	73
IV.2	Physiologische Veränderungen	74
IV.2.1	Veränderung der stabilen Isotope bei Unterernährung	74
IV.2.1.1	Stabile Isotope der Haare im retrospektiven Verlauf.....	74
IV.2.1.2	Vergleich der verschiedenen Gewebe.....	76
IV.2.2	Veränderungen der Aminosäurezusammensetzung bei Unterernährung	79
IV.2.2.1	Aminosäurezusammensetzung im retrospektiven Verlauf	79
IV.2.2.2	Vergleich der verschiedenen Gewebe.....	82
IV.3	Genetischer Einfluss	85

V	Diskussion.....	88
V.1	Methodische Verbesserungen.....	88
V.1.1	Probenvorbereitung	88
V.1.1.1	Probenentnahme.....	88
V.1.1.2	Probenaufbereitung	91
V.1.2	Qualitätskriterien.....	92
V.1.2.1	Isotopenanalysen an Haaren	92
V.1.2.2	Aminosäureanalysen an Haaren.....	93
V.2	Veränderungen bei Unterernährung	95
V.2.1	Wachstum.....	95
V.2.2	Stabile Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff	100
V.2.3	Aminosäurezusammensetzung	102
V.2.4	Erkenntnisse zum Hungerstoffwechsel (Gewebevergleich)	105
V.3	Genetischer Einfluss	108
V.4	Forensische und historische Anwendung	109
V.4.1	Individualbefunde der rechtsmedizinischen Proben	109
V.4.2	Individualbefunde der Proben aus Hall in Tirol.....	114
V.5	Fazit	122
VI	Literaturverzeichnis	124
VII	Anhang.....	138
VII.1	Abkürzungsverzeichnis	156
VII.2	Abbildungsverzeichnis	157
VII.3	Tabellenverzeichnis	163
VII.4	Ethikantrag.....	166
VIII	Danksagung	167

I ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit methodischen Verbesserungen bei Haaranalysen sowie den Veränderungen von Haaren bei Unterernährung und liefert neue Erkenntnisse zum Hungerstoffwechsel. Da aus ethischen Gründen keine experimentellen Studien an verhungerten Menschen durchgeführt werden können, wurden die Veränderungen bei Unterernährung durch retrospektive Haaranalysen rekonstruiert. Die Gewebeprobe stammen von 16 Verstorbenen, bei denen im Rahmen der rechtsmedizinischen Untersuchung eine Unterernährung als Todesursache festgestellt wurde. Es wird ein Verfahren vorgestellt, wie durch ein Trichogramm, der Analyse von stabilen Isotopen des Kohlenstoffs und Stickstoffs und der Aminosäureanalyse von Haarsträhnen eine Unterernährung im zeitlichen Verlauf festgestellt werden kann. Diese Diagnostik soll bei forensischen und rechtsmedizinischen Fällen von Vernachlässigung Schutzbefohler eine zusätzliche Beweislast liefern, indem die Dauer und der Verlauf von Vernachlässigung zeitlich besser eingegrenzt werden kann.

Um eine optimale Probenvorbereitung für die Analyse der stabilen Isotope und der Aminosäurezusammensetzung zu garantieren, wurden unter anderem mithilfe eines laborinternen Haarstandards verschiedene Waschschrte und Hydrolysemethoden getestet bzw. modifiziert. Es zeigte sich, dass die Analyse einer Anagenhaarsträhne (nur Haare in der aktiven Wachstumsphase) deutlich bessere und reproduzierbare Ergebnisse liefert als eine gewöhnliche Haarsträhne, da bei Unterernährung bis zu 45 % der Haare zwar noch in der Kopfhaut verbleiben, aber nicht mehr wachsen und am Stoffwechsel teilhaben. Es wird eine Formel vorgestellt, durch die, unter Annahme eines für Unterernährung typischen Trichogramms, der Isotopenwert einer unsortierten Strähne mit dem einer Anagenhaarsträhne verglichen werden kann.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass bei Unterernährung der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von Haaren im Mittel um 1 ‰ ansteigt, bedingt durch den internen Trophiestufeneffekt, der durch abgebautes Muskelgewebe, welches zur Synthese des Haakeratins verwendet wird, zustande kommt. Das Schwanken des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts ist vermutlich darin begründet, dass das Keratin zum einen durch

Kohlenstoffatome der (bedingt) essenziellen Aminosäuren aus dem Muskel und zum anderen aus Kohlenstoffgerüsten der Lipolyse, durch neu synthetisierte, nicht essenzielle Aminosäuren, aufgebaut wird. Diese Effekte heben sich gegenseitig auf, weshalb sich der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert nur eingeschränkt zur Diagnose einer Unterernährung eignet. Die Aminosäureanalyse zeigt bei verhungerten Personen kurz vor dem Tod ein Abfallen (bedingt) essenzieller Aminosäuren, was unter Umständen zur Einstellung des Haarwachstums führt. Neben den anamnestischen Daten und der klinischen Untersuchung kann also ein Trichogramm sowie eine Isotopen- und Aminosäureanalyse der Haare den Verdacht einer Unterernährung erhärten.

Zudem wurde durch eine Zwillingsstudie der genetische Einfluss auf die Isotopenverhältnisse von Haaren erforscht und dabei kein signifikanter Unterschied zwischen ein- und zweieiigen Zwillingspaaren nachgewiesen. Dadurch konnte ein weiterer potenzieller Störfaktor bei der Analyse stabiler Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff ausgeschlossen werden.

An einem historischen Fall wurden die gewonnenen Erkenntnisse angewandt, indem Haarproben untersucht wurden, die bei der Exhumierung eines ehemaligen Friedhofs geborgen wurden. Hierbei handelte es sich um einen Friedhof der psychiatrischen Anstalt Hall in Tirol, welcher zur Zeit des Nationalsozialismus betrieben wurde. Dabei kam die Frage auf, ob die Bestatteten Opfer der ‚wilden Euthanasie‘ waren, die durch Vorenthalten von Nahrung ermordet wurden. Die Haaranalysen ergaben, dass eine Mehrzahl der untersuchten Probanden vor ihrem Tod unterernährt war und bestätigen damit die Daten aus Patientenakten und weiteren Forschungsarbeiten, dass es eine Unterversorgung der psychiatrischen Patienten zu dieser Zeit gab. Die Frage nach einer bewussten Tötungsabsicht kann durch die Ergebnisse dieser Arbeit nicht beantwortet werden und ist Forschungsgegenstand anderer wissenschaftlicher Arbeiten.

II EINLEITUNG

II.1 Relevanz des Forschungsvorhabens

Die vorliegende Arbeit untersucht die Veränderungen der Anatomie und Physiologie von Haaren bei Unterernährung und zeichnet sich durch eine hohe gesellschaftspolitische Relevanz aus, da die gewonnenen Erkenntnisse aus der Grundlagenforschung zu Haarwachstum, Hungerstoffwechsel sowie umweltbedingter und genetischer Einflussfaktoren auf Isotopen- und Aminosäureanalysen einen wichtigen Beitrag zur Überführung von Straftätern liefern könnten, die sich der Vernachlässigung Schutzbefohlener schuldig gemacht haben. Bei Vernachlässigungsfällen wird zur Beweisdokumentation meist nur der aktuelle Status der Unterernährung dokumentiert (Herrmann *et al.* 2016). Im rechtsmedizinischen Sinne wäre jedoch auch der Verlauf interessant, also ab wann die Unterernährung einsetzte. Hier können Haaranalysen die diagnostische Lücke schließen, indem sie retrospektiv den Ernährungszustand abbilden. Konkret werden die Todesumstände von potenziellen Euthanasieopfern während des Nationalsozialismus untersucht, bei denen der Verdacht bestand, dass sie im Rahmen der ‚wilden Euthanasie‘ ermordet wurden.

Das Vorhaben baut auf vorangegangene Arbeiten der Forschungsgruppe auf (Carlichi-Witjes 2016; Mekota *et al.* 2006; Mekota *et al.* 2009; Neuberger 2013; Neuberger *et al.* 2013) und ist zum besseren Verständnis von Haaranalysen im rechtsmedizinischen Kontext unerlässlich. Zudem wurden im Rahmen dieser Promotion zwei Abschlussarbeiten für den Master of Science in Biologie betreut, deren Ergebnisse in diese Arbeit einfließen. Benda (2015) untersuchte den genetischen Einfluss auf die Verhältnisse der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff im Haar, während Krippner (2015) die Veränderungen der Aminosäurezusammensetzung von Haarkeratin bei Unterernährung erforschte.

In dieser Dissertation wird eine Methode zur Analyse von Haarsträhnen im forensischen und historischen Kontext getestet, die in vergleichbarer Form bereits bei Williams *et al.* (2011)

beschrieben ist. Neben der Rechtsmedizin können von den methodischen Verbesserungen auch die Anthropologie und die Geschichtswissenschaften profitieren, da der Ernährungs- und Versorgungszustand historischer Gesellschaften präziser darstellbar ist und so beispielsweise Hungersnöte oder Handelsbeziehungen vergangener Sozietäten in einer höheren zeitlichen Auflösung detektiert werden können. Weitere Anwendungen dieser Methode im historischen Kontext finden sich in Neuberger *et al.* (2014) und Neuberger *et al.* (2018).

Gerade im Hinblick auf die zunehmende Zahl der Kindeswohlgefährdungen in Deutschland und den demografischen Wandel mit dem damit einhergehenden Mangel an Pflegekräften sowie Fällen von Vernachlässigung im Alter (vgl. Kapitel II.3.1), hat dieses Forschungsvorhaben eine hohe Brisanz, da Haaranalysen nicht nur zur Aufklärung, sondern auch als diagnostisches Mittel zur Prävention des Hungertodes beitragen könnten.

II.2 Fragestellung und Zielsetzung

Haare bestehen zum Großteil aus Keratin, welches aus Aminosäuren aufgebaut wird. Durch ihre hohe Syntheserate reagieren Haare besonders sensibel auf veränderte Ernährungsgewohnheiten und physiologischen Stress, wie beispielsweise bei Unterernährung (D'Ortenzio *et al.* 2015; Neuberger *et al.* 2013). Da sie kontinuierlich wachsen, nach ihrer Bildung nicht mehr am Stoffwechsel teilnehmen, durch ihre chemische Struktur äußerst widerstandsfähig gegen Umwelteinflüsse und leicht zugänglich sind, eignen sie sich hervorragend als Probenmaterial (Petzke *et al.* 2010). Da der Mensch zur Synthese der Haare die Aminosäuren über die Nahrung aufnimmt und damit deren individuelle Isotopensignatur ins Keratin einbaut, fungieren Haare als Ernährungstagebuch, das mittels massenspektrometrischer Analyse der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff gelesen werden kann.

Durch vorangegangene Studien ist bekannt, dass Veränderungen der Ernährung auch über keratinisierte Hartgewebe nachverfolgt werden können (Bol & Pflieger 2002; D'Ortenzio *et al.* 2015; Mekota *et al.* 2009; Neuberger *et al.* 2013; Valenzuela *et al.* 2018). Es treten jedoch immer wieder Probleme, vor allem bei der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, auf (Neuberger 2013). Um die Validität der Ergebnisse für den forensischen Gebrauch zu erhöhen und um Störfaktoren zu eliminieren, wurden zum einen genetische (Zwillingsstudie) und umweltbedingte (Unterernährung) Einflussfaktoren auf die Isotopenwerte untersucht. Zum anderen wurden methodische Verbesserungen vorgenommen, um genauere und besser

reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Die gewonnenen Erkenntnisse wurden dann bei einer konkreten forensischen Fragestellung angewendet.

In der vorliegenden Arbeit stehen somit vier Fragen im Vordergrund:

1. Welche methodischen Verbesserungen können die Validität der Ergebnisse erhöhen?

In der Literatur sind verschiedene Methoden zur Probenaufbereitung beschrieben (Minagawa 1992; O'Connell & Hedges 1999a; Pozebon *et al.* 2017; Yoshinaga *et al.* 1996). Es handelt sich meist um eine Chloroform-Methanol-Lösung, die jedoch in unterschiedlichen Verhältnissen angegeben wird. Zu den Einwirkzeiten werden meist keine Angaben gemacht. Ein Vergleich verschiedener Mischungsverhältnisse und Einwirkzeiten soll Klarheit über die optimalen Bedingungen verschaffen. Zudem soll ein standardisiertes Protokoll zur Probenvorbereitung für künftige Studien eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse liefern. Die Etablierung eines Haarstandards dient als zusätzliches Qualitätskriterium für eine erfolgreiche Versuchsdurchführung.

2. Wie verändert sich die Anatomie, Physiologie und Biochemie von Haaren bei Fehlernährung?

Bis auf wenige Studien (D'Ortenzio *et al.* 2015; Williams *et al.* 2011) werden die Wachstumsphasen der Haare bei Ernährungsstudien oft vernachlässigt. Gerade bei physiologischem Stress kann dies zu veränderten Ergebnissen führen. Daher wird in der vorliegenden Arbeit ein Augenmerk auf die Veränderungen der Morphologie (Trichogramm) bei Unterernährung gelegt. Auch die Physiologie, also die Stoffwechselwege von der aufgenommenen Nahrung bzw. dem Abbau körpereigenen Gewebes bei Unterernährung, bis zur Inkorporation der Bestandteile ins Haar, wird durchleuchtet. Veränderungen der Isotopenwerte und der Aminosäurezusammensetzung der Haare bei Mangelernährung gilt dabei besonderes Interesse. Mittels Haar- und Gewebeproben von mangelernährten Probanden aus der Rechtsmedizin werden diese Veränderungen erforscht.

3. Gibt es einen genetischen Einfluss auf die Isotopenfraktionierung, und damit eine interindividuelle Variation der δ -Notationen?

Über genetische Einflüsse der Isotopenfraktionierung ist bislang wenig bekannt (vgl. Kapitel II.5.4). Es stellt sich daher die Frage, ob das Verhältnis von schwerem zu leichtem Isotop im Haarkeratin neben der Ernährung bzw. Fraktionierung auch genetisch, z. B. im Rahmen von

Isoenzymen mit unterschiedlichen Diskriminierungseigenschaften, bedingt ist. Um diese Frage zu beantworten, wurden die Haare von Zwillingspaaren untersucht. Unter der Annahme, dass die jeweiligen Zwillingspaare eine ähnliche Ernährung haben, kann durch Vergleich der Isotopenverhältnisse von mono- und dizygoten Zwillingspaaren der genetische Einfluss abgeschätzt werden. Durch die Abweichung der $\delta^{13}\text{C}$ - bzw. $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des Haarkeratins bei den monozygoten Paaren im Vergleich zu den dizygoten Paaren kann die Stärke des genetischen Einflusses abgeschätzt werden. Hierdurch soll ein Beitrag zur besseren Interpretation von Isotopendaten geleistet werden, da beurteilt werden kann, ab welcher Variation der δ -Werte nicht mehr von einer interindividuellen Schwankung, sondern von einer veränderten Ernährung ausgegangen werden muss.

4. Sind die in Hall in Tirol ausgegrabenen Skelette Opfer des Euthanasieprogramms der Nationalsozialisten?

Die Erkenntnisse und Methoden, die im Rahmen dieser Arbeit gewonnen bzw. etabliert wurden, sollen an einem konkreten forensischen Fall angewendet werden: Im Frühjahr 2011 wurde in Hall in Tirol (Österreich) ein ehemaliger Friedhof ausgegraben, der von einer psychiatrischen Anstalt während der NS-Zeit betrieben wurde. Da zwischen 1938 und 1945 ca. 300 bis 400 Kranke aufgrund der Folgen von Hunger bzw. Unterversorgung verstorben sind, bestand der Verdacht, dass die Bestatteten Opfer der ‚wilden Euthanasie‘ waren (Hinterhuber 1995). Daher beauftragte die aktuelle Betreibergesellschaft ‚Tirol Kliniken‘, auf dessen Areal sich der Friedhof befand, eine interdisziplinäre Kommission mit der Aufarbeitung der Todesumstände (Perz *et al.* 2014). Der Autor der vorliegenden Arbeit war im Teilprojekt ‚Anthropologie‘ bei den Ausgrabungen beteiligt und für die Bergung der keratinisierten Hartgewebe zuständig. Die anthropologischen Untersuchungen wurden von Carlich-Witjes (2016) durchgeführt. Bei acht Bestatteten konnten noch verwertbare Haarproben gewonnen werden, die der Analyse stabiler Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff zugeführt wurden, um sie hinsichtlich einer prämortalen Unterernährung zu untersuchen. Diesbezüglich soll der Frage nachgegangen werden, ob es sich um Opfer der Nationalsozialisten gehandelt haben könnte, die durch Vernachlässigung und insbesondere Vorenthalten von Nahrung, im Rahmen der ‚wilden Euthanasie‘, ermordet wurden.

II.3 Historischer und soziokultureller Hintergrund

II.3.1 Unterernährung und Vernachlässigung als gesellschaftliches Problem

Insgesamt ist der Hungertod in den Industrienationen relativ selten und resultiert unter anderem durch zehrende Krankheiten (z. B. Tumor, HIV), die Unfähigkeit der Nahrungsaufnahme (z. B. Ösophaguskarzinom), psychische Erkrankungen (*Anorexia nervosa* – 29 dokumentierte Todesfälle in Deutschland im Jahr 2014), Alter (Appetitlosigkeit, Kachexie, Sarkopenie) oder Vernachlässigung (Madea *et al.* 2016). Im forensischen Kontext spielt vor allem die Vernachlässigung eine wichtige Rolle, weshalb auf diese Ursache der Unterernährung im Speziellen eingegangen wird. Hiervon sind vor allem Kinder und ältere Menschen betroffen.

Während Misshandlung ein aktives Handeln voraussetzt, ist die **Vernachlässigung** durch die Unterlassung von Fürsorge der Betreuungsperson gekennzeichnet (Goldbeck 2019). Diese kann beabsichtigt oder unbeabsichtigt (z. B. Inkompetenz, Unwissenheit) sein (Clarysse *et al.* 2018). Von den verschiedenen Formen der Vernachlässigung (körperlich, emotional, sozial) steht in der vorliegenden Arbeit vor allem die körperliche Vernachlässigung, in Form unzureichender Ernährung im Vordergrund, welche sich quantitativ oder qualitativ äußern kann, wobei letztgenanntes häufiger zu beobachten ist (Herrmann *et al.* 2016).

Die Relevanz des Themas zeigen die aktuellen Zahlen des Kinder- und Jugendhilfereports 2018 von Rauschenbach *et al.* (2019): Die Jugendämter stellten 2018 in Deutschland 45777 akute und latente Kindeswohlgefährdungen fest, was in etwa 0,4 % der Minderjährigen in Deutschland entspricht (2013 waren es 38622 Fälle). Davon zeigten 61,1 % der Kinder Anzeichen für Vernachlässigung. Eine genauere Auflistung hinsichtlich der körperlichen Vernachlässigung wurde nicht vorgenommen. Eine Studie von Häuser *et al.* (2011), die auf einer retrospektiven Befragung einer für Deutschland repräsentativen Stichprobe basiert, kommt zu dem Ergebnis, dass die körperliche Vernachlässigung etwa die Hälfte der Fälle ausmacht. Bei den unter 3-jährigen ist die Gefährdungsquote am höchsten, was jedoch auch einer höheren Sensibilität und Aufmerksamkeit, aufgrund der besonderen Schutzbedürftigkeit, geschuldet sein könnte (Rauschenbach *et al.* 2019). Unter den Todesfällen durch Unterernährung ist ebenfalls die Gruppe der unter 3-jährigen am stärksten betroffen, da sie sich noch nicht selbstständig ernähren können (Madea *et al.* 2016). Die USA registrierten 2013 laut Herrmann *et al.* (2016) insgesamt 1484 gesicherte Todesfälle bezüglich Kindesmissbrauch und Vernachlässigung (aus dem *National Data Archive on Child Abuse and Neglect* (NDACAN)), wovon 71 % auf Fälle von Vernachlässigung zurückzuführen waren. Todesfälle von Kindern aufgrund von Vernachlässigung sind in Deutschland sehr selten (Banaschak *et al.* 2015). Laut

Fieguth *et al.* (2002) wurden in der Literatur zwischen 1985 und 1990 insgesamt 28 Fälle beschrieben.

Neben Kindern sind auch **ältere Menschen** aufgrund steigender Hilfsbedürftigkeit gefährdet, in Folge von Vernachlässigung, an Unterernährung zu leiden. Laut Statistischem Bundesamt waren 2017, von den rund 83 Millionen Einwohnern in Deutschland, ca. 28 % 60 Jahre oder älter - mit steigender Tendenz¹. Im Jahr 2007 waren in Deutschland 2,25 Millionen Menschen pflegebedürftig, davon wurden ca. 68 % zu Hause versorgt. Bei gleichbleibender Pflegequote ist bis 2050 mit ca. 4,5 Millionen Pflegebedürftigen zu rechnen (Statistisches Bundesamt 2010). Der Personalbedarf an Pflegekräften wird also weiter steigen (Becker 2017). Der zunehmende Mangel an Pflegekräften und die damit einhergehende verminderte Zeit, die Pflegekräfte dafür aufwenden können, eine ausreichende Versorgung zu gewährleisten, dürfte den Anteil unterernährter älterer Menschen in Zukunft noch erhöhen. Laut einer Pilotstudie von Bartholomeyczik *et al.* (2010) waren 26 % der Bewohner von Altenpflegeeinrichtungen wahrscheinlich von einer Mangelernährung betroffen und bei weiteren 28 % bestand ein erhöhtes Risiko. Hauptgründe für eine Mangelernährung sind Appetitlosigkeit (durch reduzierten Geschmacks- und Geruchssinn, Medikamenteneinnahme), Probleme beim Kauen und Schlucken, Demenz und weitere Erkrankungen (Bartholomeyczik 2019). Auch die Gewalt gegenüber älteren Menschen ist nicht zu vernachlässigen. Bei ca. einem Viertel der Fälle ereignet sie sich im häuslichen Bereich, wobei physische Gewalt von 3,3 % der Befragten angegeben wurde (Hirsch 2016). Umgekehrt sind jedoch auch Pflegenden Opfer von Gewalt. Zwei von drei ambulanten Pflegekräften gaben an, dass sie bereits Gewalt durch Pflegebedürftige erfahren haben (Hirsch 2016).

Für rechtsmedizinische Fragestellungen ist der zeitliche Verlauf der Nahrungsaufnahme bzw. Nahrungskarenz wichtig. Mit Klassifikationssystemen wie der Waterlow-Klassifikation (Korrelation des Gewichts und der Größe mit dem zu erwartenden Normwerten) kann zwar eine Graduierung (chronisch/akut) und damit Abschätzung der Dauer einer Unterernährung vorgenommen werden, der genaue Verlauf ist jedoch rechtsmedizinisch schwer zu ergründen (Herrmann *et al.* 2016; Madea *et al.* 2016). Hier könnten Isotopenanalysen von Haaren Abhilfe schaffen, da über das Haarwachstum eine chronologische Inkorporation der Nährstoffe erfolgt und somit eine retrospektive Ernährungsrekonstruktion ermöglicht wird. Auch wenn die Todesfälle relativ betrachtet selten sind, ist die Unterernährung ein häufiges Symptom

¹ <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bevoelkerung/Bevoelkerungsstand/Tabellen/liste-altersgruppen.html> (letzter Aufruf 02.09.2019)

körperlicher Vernachlässigung, weshalb die Ergebnisse dieser Arbeit auch einen wichtigen Beitrag zur Prävention von Straftaten leisten.

II.3.2 Verbrechen der Nationalsozialisten im Rahmen der ‚wilden Euthanasie‘

Das NS-Euthanasieprogramm ist Ausdruck der menschenverachtenden Ideologie der Nationalsozialisten. Die Gesinnung, dass es höherwertiges und unwertes Leben gäbe, welches zum Wohle der Allgemeinheit ausselektiert werden müsse, hat ihren Ursprung im Sozialdarwinismus. Charles Darwins Hauptwerk, in dem er 1859 die Evolutionstheorie postuliert, wurde schon bald von diversen Wissenschaftlern auf menschliche Gesellschaften und Staaten umgedeutet (Merkel 2006). Bereits um 1900 war der Gedanke der ‚Rassenhygiene‘ unter Ärzten verbreitet (Thun-Hohenstein 2017). Dass die Nationalsozialisten diese Theorien übernahmen und in politisches Handeln überführten, wurde in jenen Kreisen durchaus begrüßt (Walli 2016). Bereits im Jahr der Machtergreifung durch die Nationalsozialisten 1933 wurde ein Gesetz erlassen, welches Sterilisationen von psychisch Kranken legalisierte, was dazu führte, dass bis 1945 ca. 350000-400000 Zwangssterilisationen vorgenommen wurden (Steger *et al.* 2012). Nach dem Krieg wurde diese Praxis zwar eingestellt, das Gesetz wurde in der Bundesrepublik Deutschland jedoch erst 1974 formell außer Kraft gesetzt (Steger *et al.* 2012). Die gezielten Tötungen im Rahmen des NS-Euthanasieprogramms beginnen mit einem Führererlass 1939, in welchem verfügt wurde, dass namentlich zu bestimmende Ärzte, unheilbar Kranken den sogenannten „Gnadentod“ gewähren können (Gabriel 2016). Kurz darauf wurde mit der „Aktion T4“ (in Anlehnung an die Adresse der Zentraldienststelle in der Tiergartenstraße 4, Berlin) begonnen, im Rahmen derer Patienten von Heil- und Pflegeanstalten bezüglich ihrer Krankheiten und Arbeitsfähigkeit bewertet, ausgewählt, deportiert und ermordet wurden (insgesamt über 70000) (Walli 2016). Da sich in der Bevölkerung Unmut über die „Aktion T4“ äußerte, gingen die Nationalsozialisten 1941 dazu über, den Massenmord dezentral und subtiler zu organisieren und sogar noch auszuweiten (z. B. auf Altenheime), was als Phase der ‚wilden Euthanasie‘ bezeichnet wird (Hohendorf *et al.* 2002). In dieser Phase wurden die Patienten in den jeweiligen Anstalten unter anderem mit Medikamenten oder durch Vernachlässigung und sogenannte „Hungerkost“ ermordet. Nicht arbeitenden Patienten wurde eine protein- und fettarme Kost verabreicht, infolgedessen allein in Bayern bis zu 15000 Patienten an Unterernährung bzw. deren Folgen (z. B. Pneumonie) verstarben (Söhner *et al.* 2017). In der Heil- und Pflegeanstalt in Hall in Tirol sind zwischen 1938 und 1945 ca. 300-400 Patienten durch Unterernährung verstorben (Hinterhuber 1995). Insgesamt wurden im Rahmen des NS-Euthanasieprogramms Schätzungen zufolge mehr als 200000 Menschen ermordet (Hohendorf *et al.* 2002).

II.4 Informationsgehalt stabiler Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff

II.4.1 Grundlagen

Stabile Isotope sind Atome des gleichen chemischen Elements mit einer unterschiedlichen Anzahl von Neutronen, aber gleicher Anzahl von Protonen, die keinem radioaktiven Zerfall unterliegen (Latscha & Klein 2002). Beim Kohlenstoff liegt der überwiegende Anteil (ca. 98,9 %) in Form von ^{12}C vor, während ca. 1,1 % ^{13}C -Isotope ausmachen. Bei Stickstoff beträgt der Anteil des schweren Isotops ^{15}N 0,4 %, während das leichte Isotop ^{14}N die Mehrheit der Stickstoffatome mit ca. 99,6 % stellt (Ambrose 1993). Aufgrund ihres Gewichtsunterschiedes unterliegen Isotope jedoch einer Fraktionierung innerhalb der Biosphäre, weshalb sich ihr Verhältnis untereinander in den unterschiedlichen Kompartimenten verändert (Grupe *et al.* 2015). Beispielsweise verlassen Moleküle mit leichtem Isotop den Reaktionspartner schneller wieder, solche mit schwerem Isotop sind fester gebunden und manche Enzyme können gegen ein bestimmtes Isotop in ihrem Substrat diskriminieren (Hölzl *et al.* 2007). Hieraus resultiert eine kinetische Isotopenfraktionierung, wodurch verschiedene Kompartimente der Geo-, Bio- und Hydrosphäre eine charakteristische Verteilung von schwerem zu leichtem Isotopen aufweisen (Grupe *et al.* 2015). Da man über die Nahrungsaufnahme bis auf atomare Ebene mit seiner Umwelt verknüpft ist, kann man mithilfe der Analyse stabiler Isotope von Körpergewebe Rückschlüsse auf die inkorporierte Nahrung ziehen (Pate 1994).

Mittels massenspektrometrischer Analysen kann der Anteil an schwerem Isotop in einer Probe ermittelt werden. Dieser wird im Vergleich zu einer Referenzprobe in Promille als δ -Notation angegeben (vgl. Kapitel III.2.2). Je mehr schwere Isotope sich in einer Probe befinden, desto höher ist demnach der δ -Wert (Fry 2006).

II.4.2 Ernährungsrekonstruktion

Aufgrund der Isotopenfraktionierung reichert sich das schwere Isotop im Gewebe eines Konsumenten gegenüber der Nahrungsquelle an, wodurch ein sogenannter Trophiestufeneffekt entsteht ($\Delta = \delta_{\text{Gewebe}} - \delta_{\text{Nahrung}}$) (Neuberger 2013). Pro Trophiestufe erhöht sich daher im Haar der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert um ca. 2-3 ‰, der Anstieg des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts fällt mit ca. 1-3 ‰ geringer aus (Grupe *et al.* 2015; Neuberger *et al.* 2018; O'Connell & Hedges 1999a; O'Connell *et al.* 2001). Beim $\delta^{13}\text{C}$ -Wert ist der Trophiestufeneffekt im Knochenkollagen (ca. 5 ‰) höher als beim Keratin (ca. 1-3 ‰), beim $\delta^{15}\text{N}$ -Wert gibt es keinen Unterschied zwischen Kollagen und

Keratin (O'Connell *et al.* 2001). Lehn und Graw (2014) postulieren, dass der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Kollagens um ca. 1,4 ‰ höher ist als der Isotopenwert der Haare.

Stickstoff eignet sich besonders gut zur Analyse der Trophiestufe (herbivor, omnivor, carnivor; vgl. auch Kapitel II.5.2.5), da er den Proteinanteil der Nahrung repräsentiert. Es gilt jedoch zu beachten, dass die Werte interindividuell stark schwanken und bei speziellen Stoffwechsel- oder Ernährungssituationen besonderes Augenmerk auf die Isotopenwerte zu legen ist: bei Unterernährung oder durch das Stillen von Säuglingen erhöht sich der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert aufgrund des internen Trophiestufeneffekts (vgl. Kapitel II.5.2.5); bei übermäßigem Verzehr von Leguminosen ist der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert erniedrigt; bei einem hohen Anteil aquatischer Nahrungsquellen erhöht sich der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert, da die Nahrungsketten meist länger sind als terrestrische (Grupe *et al.* 2015). Neben den genannten Ausnahmen gibt es noch eine Vielzahl weiterer Unsicherheiten, die bei der Interpretation von Isotopenwerten zu beachten sind.

Während der Stickstoff Rückschlüsse auf die Trophiestufe zulässt, eignet sich der **Kohlenstoff** dazu, die Nahrungszusammensetzung genauer aufzuschlüsseln. Dies liegt darin begründet, dass die Fraktionierung der Isotope vornehmlich auf Ebene der Primärproduzenten (C3 bzw. C4-Pflanzen) stattfindet und der Trophiestufeneffekt verhältnismäßig gering ausfällt (Grupe *et al.* 2015). Während C3-Pflanzen (z. B. Weizen) einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von ca. -27 ‰ haben (mit hoher Variationsbreite), zeigen C4-Pflanzen (z. B. Mais) einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von ca. -14 ‰, da sie bei der Photosynthese ($\delta^{13}\text{C}$ -Wert von atmosphärischem CO_2 ca. -7 ‰), weniger stark gegen das schwere Isotop diskriminieren (Ambrose & DeNiro 1986; Grupe *et al.* 2015). Die Werte der Konsumenten auf Herbivorenebene zeigen je nach Nahrungszusammensetzung eine Mischisotopie. Bei Konsum eines Beutetiers setzt sich diese Mischisotopie ohne größeren Trophiestufeneffekt fort (Grupe *et al.* 2015). Aufgrund unterschiedlicher Diskriminierung gegen das schwere Isotop ^{13}C bei der Synthese von Geweben, hat Fett im Vergleich zur Nahrung erniedrigte (-3 ‰), Muskel ähnliche und Haare (+3 ‰) sowie Kollagen (+5 ‰) erhöhte $\delta^{13}\text{C}$ -Werte (Ambrose & DeNiro 1986; Mekota *et al.* 2009; Tieszen *et al.* 1983). Bei der Interpretation von Isotopendaten muss zudem beachtet werden, dass der Kohlenstoff aus dem Fettgewebe seinen Ursprung in allen Nahrungsbestandteilen hat (Kohlenhydrate, Fette, Proteine), während der Kohlenstoff aus dem Protein (Muskel, Knochen, Haar), welches aus Aminosäuren synthetisiert wird, bei normaler Ernährung hauptsächlich den Proteinanteil der Nahrung repräsentiert (vgl. auch Kapitel II.5.1).

Richtwerte bezüglich der Isotopenwerte in Haaren bei unterschiedlicher Ernährung finden sich in Tabelle 1. Laut O'Connell und Hedges (1999a) unterscheidet sich der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von

Vegetariern nicht wesentlich von einer omnivoren Ernährungsweise, da sie auch Tierprodukte zu sich nehmen, wobei Petzke *et al.* (2005b) einen signifikanten, wenn auch geringen, Unterschied feststellen konnten. Anhand des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts kann jedoch auf den Anteil tierischen Proteins geschlossen werden.

Tabelle 1: Mittlere $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte [‰] mit Standardabweichung (SD) von Haaren bei unterschiedlicher Ernährung (Anzahl der Probanden in Klammern); Daten aus (Petzke *et al.* 2005b).

	vegan (6)	vegetarisch (15)	omnivor (99)
$\delta^{15}\text{N}$ [‰]	6,2 +/-0,4	7,7 +/-0,5	9,9 +/-0,6
$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	-19,6 +/-0,4	-20,2 +/-0,3	-20,9 +/-0,3

II.4.3 Aminosäureanalysen und stabile Isotope

In der vorliegenden Arbeit werden die Veränderungen der Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff und die Veränderungen der Aminosäurezusammensetzung von Haaren bei Unterernährung untersucht. Da die verschiedenen Aminosäuren unterschiedliche δ -Werte aufweisen, kann ein anderes Verhältnis der Aminosäuren zu einer Veränderung der δ -Werte im Haar führen. Ein verminderter Anteil einer Aminosäure mit hohem $\delta^{15}\text{N}$ -Wert oder ein erhöhter Anteil einer Aminosäure mit erniedrigtem $\delta^{15}\text{N}$ -Wert würde demnach zu einer Erniedrigung der Mischisotopie des Haares führen. Außerdem könnte eine veränderte Isotopie, einer neu synthetisierten Aminosäure bei Nahrungskarenz, zu einem neuen globalen Isotopenwert führen. Gerade bei Mangelernährung besteht die Annahme, dass die Aminosäuren des Kollagens im Knochen bzw. Keratins im Haar nicht ausschließlich aus dem Protein stammen, sondern aus anderen Nahrungsquellen (Fette, Kohlenhydrate) resynthetisiert werden (Ambrose 1993; Grupe *et al.* 2015; Neuberger *et al.* 2013).

Um Letztgenanntes zu untersuchen wäre ein anderes Analyseverfahren notwendig, nämlich die sogenannte „*compound specific isotope analysis*“ (CSIA) (Grupe *et al.* 2015). Hierbei handelt es sich um eine Kombination der in dieser Studie durchgeführten Einzelanalysen, indem das Protein in Aminosäuren aufgespaltet, und zugleich der $\delta^{15}\text{N}$ - bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Aminosäure gemessen wird (GC-C-IRMS: gas chromatography - combustion - isotope ratio mass spectrometry) (Petzke *et al.* 2010). Der analytische Fehler ist hierbei jedoch noch relativ hoch mit 0,6 - 1.1 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$ bei Leucin und Glycin. Außerdem können für das Keratin wichtige Aminosäuren wie Arginin und Cystein nicht analysiert werden (Petzke *et al.* 2010). Eine weitere Möglichkeit ist die LC/IRMS (liquid chromatography/isotope ratio mass spectrometry), bei der die Aminosäuren ohne Derivatisierung aufgetrennt und analysiert werden können und somit die Fehlerspanne der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, durch Vermeidung von externen Kohlenstoffatomen,

minimiert wird (Raghavan *et al.* 2010). Jedoch erhöht sich dadurch die Analysedauer auf mehrere Stunden pro Probe (Petzke *et al.* 2010). Eine aufschlussreiche Studie wurde von Petzke *et al.* (2005b) durchgeführt, bei der die Isotopenwerte von Haarkeratin bei Omnivoren und Vegetariern (inklusive Veganern) analysiert wurden (vgl. Tabelle 1) und zudem die Isotopenwerte der einzelnen Aminosäuren aufgeschlüsselt wurden (vgl. Tabelle 2).

Tabelle 2: $\delta^{15}\text{N}$ - bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der einzelnen Aminosäuren im Haarkeratin bei Personen mit omnivorer bzw. vegetarischer/veganer Ernährungsweise. Angegeben sind die Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD) und die Anzahl der Proben (n). Die Daten stammen von Petzke *et al.* (2005b), lediglich die Werte von Cystein stammen von Bichon *et al.* (2018).

	Omnivore		Vegetarier (inklusive 6 Veganer)			
	$\delta^{13}\text{C}$ MW \pm SD [%o] (n)	$\delta^{15}\text{N}$ MW \pm SD [%o] (n)	$\delta^{13}\text{C}$ MW \pm SD [%o] (n)	$\delta^{15}\text{N}$ MW \pm SD [%o] (n)	$\delta^{13}\text{C}$ MW \pm SD [%o] (n)	$\delta^{15}\text{N}$ MW \pm SD [%o] (n)
Histidin	-18,1 \pm 7,1 (63)	3,5 \pm 2,2 (35)	-22,4 \pm 5,5 (15)	1,5 \pm 3,0 (3)		
Isoleucin	-26,1 \pm 4,7 (98)	9,5 \pm 4,8 (69)	-34,6 \pm 4,8 (21)	4,7 \pm 4,0 (19)		
Leucin	-30,3 \pm 5,3 (99)	11,0 \pm 1,6 (96)	-39,3 \pm 3,9 (21)	9,2 \pm 1,0 (21)		
Lysin	-24,2 \pm 9,5 (99)	2,9 \pm 1,5 (95)	-32,5 \pm 7,4 (21)	0,5 \pm 2,0 (21)		
Phenylalanin	-26,0 \pm 11,6 (99)	2,4 \pm 4,0 (95)	-33,2 \pm 3,5 (21)	3,1 \pm 1,6 (21)		
Threonin	-28,2 \pm 10,1 (99)	-9,3 \pm 3,3 (68)	-43,7 \pm 4,7 (21)	-8,1 \pm 3,6 (20)		
Valin	-24,1 \pm 15,8 (99)	14,4 \pm 2,0 (96)	-32,0 \pm 4,3 (21)	12,1 \pm 1,8 (21)		
Alanin	-15,2 \pm 7,7 (96)	10,3 \pm 1,9 (96)	-20,5 \pm 4,8 (21)	8,8 \pm 1,9 (21)		
Asparaginsäure	-15,3 \pm 3,4 (99)	9,5 \pm 1,6 (73)	-20,7 \pm 4,4 (21)	7,0 \pm 0,9 (20)		
Glutaminsäure	-18,0 \pm 3,2 (99)	14,8 \pm 1,2 (95)	-25,7 \pm 5,0 (21)	12,1 \pm 1,8 (21)		
Glycin	0,7 \pm 6,3 (99)	7,3 \pm 1,2 (96)	-0,6 \pm 4,2 (21)	5,2 \pm 1,6 (21)		
Prolin	-21,1 \pm 5,5 (99)	15,9 \pm 1,4 (96)	-29,4 \pm 3,8 (21)	14,4 \pm 0,9 (21)		
Serin	-23,9 \pm 9,2 (99)	9,1 \pm 1,3 (96)	-38,3 \pm 5,1 (21)	7,5 \pm 1,0 (21)		
Tyrosin	-17,2 \pm 4,2 (99)	4,7 \pm 2,2 (85)	-19,2 \pm 1,1 (21)	3,0 \pm 2,2 (21)		
Cystein	-17,6 \pm 0,7 (25)	10,2 \pm 0,8 (25)				

II.5 Stoffwechsel und (Fehl-)Ernährung

II.5.1 Ernährungsphysiologie

II.5.1.1 Energiebedarf und Energiespeicher

Der Körper braucht zur Aufrechterhaltung seiner Funktionen Energie in Form von Nahrung. Nimmt er mehr Energie auf, als er verbraucht, spricht man von positiver Energiebilanz und es überwiegen anabole Prozesse, der Mensch nimmt also zu bzw. wächst. Nimmt er weniger auf als er verbraucht (negative Energiebilanz), überwiegen katabole Prozesse und er nimmt ab (Pape *et al.* 2018). Zur Aufrechterhaltung der Homöostase sind zahlreiche komplexe endokrine, neuronale und metabolische Prozesse nötig (Biesalski *et al.* 2017).

Der tägliche Energiebedarf eines Menschen setzt sich aus Grundumsatz, arbeitsinduzierter Thermogenese und nahrungsinduzierter Thermogenese zusammen und ist nicht einfach zu bestimmen, da er von vielen Faktoren abhängt (Suter 2008). Neben Alter und Geschlecht wird er auch von der individuellen Lebenssituation beeinflusst (Pape *et al.* 2018). So benötigt eine Person mehr Energie, wenn sie viel körperliche Arbeit leistet. Aber auch Schwangere oder Kranke haben einen veränderten Bedarf. Laut Suter (2008) empfiehlt die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (im Jahr 2000) eine tägliche Energiezufuhr von 2900 kcal für einen 25-jährigen Mann und 2300 kcal für eine 25-jährige Frau. Dies sind nur grobe Richtwerte, die bei Berücksichtigung von geringer oder hoher körperlicher Aktivität und Unter- bzw. Übergewicht korrigiert werden müssen.

Die Hauptenergielieferanten sind die Nahrungsbestandteile Kohlenhydrate, Fette und Proteine (Huppelsberg & Walter 2013). Die inkorporierte Nahrung wird im Gastrointestinaltrakt zerlegt, aufgeschlossen, absorbiert und die verwertbaren Bestandteile über das Blutkreislaufsystem (bzw. bei Fetten unter Beteiligung des lymphatischen Systems) an ihren Bestimmungsort zur weiteren Verwertung transportiert (Pape *et al.* 2018). Da der Körper zur Aufrechterhaltung seiner Funktionen nicht kontinuierlich Nahrung aufnehmen kann, werden Proteine, Kohlenhydrate und Fette zwischengespeichert und bei Bedarf wieder freigesetzt (Pape *et al.* 2018). Sie unterliegen daher häufigem Auf- und Abbau und können bei Bedarf auch ineinander umgewandelt werden (z. B. Kohlenhydrate in Fette), wobei die Leber hierfür das wichtigste Organ darstellt.

Glykogen ist ein **Kohlenhydrat** und wird aus Glukose aufgebaut. Es stellt den wichtigsten Energiespeicher dar, wird in der Leber und Skelettmuskulatur gespeichert und dient vor allem der kurzfristigen Energiebereitstellung, um den Glukosespiegel im Blut konstant zu halten (Biesalski *et al.* 2017). **Fette** hingegen fungieren als längerfristige Energiespeicher und haben die höchste Energiedichte. Aus überschüssigen Kohlenhydraten können Fette synthetisiert werden und langfristig z. B. im Unterhautfettgewebe gespeichert werden, um bei anhaltender negativer Energiebilanz wieder abgebaut zu werden (Pape *et al.* 2018). **Proteine** wiederum, die aus Aminosäuren aufgebaut werden, haben vielfältige Funktionen, wie z. B. Strukturproteine (u. a. Kollagen/Keratin) oder Funktionsproteine. Sie dienen auch der Energiebereitstellung, indem sie über Glukoneogenese zu Glukose umgewandelt werden (Biesalski *et al.* 2017).

II.5.1.2 Energiebedarf bei älteren Menschen

Neben Kindern, die einen erhöhten Bedarf haben, sind vor allem ältere Menschen von Unterernährung betroffen. Da in der vorliegenden Arbeit keine Kinder, dafür vermehrt ältere Menschen untersucht wurden, gilt diesem Kollektiv besondere Aufmerksamkeit.

Senioren weisen einen erhöhten Körperfettanteil auf, bei vermindertem Körperwasser-, Muskelzell- und Nervenzellanteil. Ab der vierten bis fünften Lebensdekade vermindert sich der Muskelanteil um 3-8 % alle 10 Jahre (Paddon-Jones & Leidy 2014). Die Folge ist ein verminderter Grundumsatz und aufgrund der reduzierten Anzahl von funktionstüchtigen Neuronen auch ein verminderter Geruchs- und Geschmacksinn sowie verminderter Appetit und Durst (Biesalski *et al.* 2017). Kau- und Schluckbeschwerden, Medikamenteneinnahme und Depression sowie diverse Erkrankungen (Verwertungsstörungen oder konsumierende Erkrankungen) verstärken diesen Effekt. Bei stationär behandelten Patienten muss ein Viertel der Senioren als Untergewichtig eingestuft werden und mehr als ein Drittel der über 65-jährigen Krankenhauspatienten weist einem Protein-Energie-Mangel auf (Biesalski *et al.* 2017). Daher wird für Senioren ein BMI von über 23 kg/m² empfohlen. Um der Sarkopenie vorzubeugen, sollten sie statt den normalerweise empfohlenen 0,8 mg/kg KG/d Protein, 1,5 mg/kg KG/d Protein über die Nahrung aufnehmen (Goisser *et al.* 2015).

II.5.1.3 Künstliche Ernährung

Da im Rahmen dieser Arbeit auch Haare von künstlich ernährten Personen analysiert wurden und im Hinblick darauf, dass pflegebedürftige Menschen oft künstlich ernährt werden und eine Haaranalyse in Zukunft als diagnostischer Marker für die Ernährungssituation bzw. eine Vernachlässigung eingesetzt werden könnte, wird hier im Speziellen darauf eingegangen.

Laut Biesalski *et al.* (2017) kann künstliche Ernährung enteral über eine Magensonde oder parenteral über einen venösen Zugang erfolgen. Unter den enteralen Ernährungslösungen gibt es hoch- und niedermolekulare. Beide enthalten ein Fett-, Kohlenhydrat- und Proteingemisch, angereichert mit der jeweiligen Empfehlung für Vitamine und Mineralstoffe. Bei den hochmolekularen, welche zudem, je nach Indikationsstellung, Ballaststoffe enthalten, sind Proteine und Kohlenhydrate mit geringem Hydrolysegehalt enthalten. Niedermolekulare Lösungen zeichnen sich durch einen starken Hydrolysegrad in Form von Aminosäuren und Monosacchariden aus und sind vor allem bei Verdauungsstörungen im Gastrointestinaltrakt angezeigt. Je nach Erkrankung sind unterschiedliche Lösungen und Zusammensetzungen indiziert.

Intravenös können keine Proteine infundiert werden, da die Gefahr einer allergischen Reaktion besteht (Königshoff & Brandenburger 2018). Daher enthalten parenterale Lösungen 2,5 -6 % Aminosäuren, 10-20 % Fettemulsionen und 20-35 % Dextrose, auf der Basis von Wasser.

Bei der künstlichen Ernährung kann es zu zahlreichen Komplikationen kommen. Neben Infektionen und Sondenfehlhaltung kann es unter anderem zu Überdosierungen mit Elektrolytstörungen oder Substratmangel in Form von Mineralstoffmangel, Vitaminmangel oder Defiziten von weiteren essenziellen Nahrungsbestandteilen kommen (Suter 2008).

II.5.2 Diagnose der Fehlernährung

II.5.2.1 Terminologie des defizienten Ernährungsstatus

In der Literatur wird eine Vielzahl von Begriffen verwendet, um den Ernährungszustand zu beschreiben. Diese werden jedoch nicht immer einheitlich genutzt. Die folgenden Begriffsdefinitionen stammen aus einer Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsmedizin (DGEM) von Pirlich *et al.* (2003), die sich dem Ernährungsstatus widmet.

Der Oberbegriff **Fehlernährung** bezieht sich auf klinisch relevante Mangelzustände und ist daher nur zur Beschreibung von Defiziten, nicht jedoch für Überernährung geeignet. Die **Unterernährung** beschreibt verringerte Energiespeicher (vgl. Kapitel II.5.1.1) und damit den Status, der z. B. mittels BMI erhoben wird. Die **Mangelernährung** entspricht dem Prozess und kann entsprechend dem jeweiligen Mangel weiter unterteilt werden. Zum einen in den **krankheitsassoziierten Gewichtsverlust**, der als signifikanter Gewichtsverlust mit Krankheitsaktivität definiert wird, den **Eiweißmangel**, der mit einer Verringerung des Körpereiwisses einhergeht und den **spezifischen Nährstoffmangel**, unter dem man ein Defizit gewisser essenzieller Nahrungsbestandteile (vgl. Kapitel II.5.3.1) versteht. Eine Mangelernährung muss also nicht zwangsweise zu einer Unterernährung führen. Die Gründe für eine Fehlernährung können eine verminderte Nahrungszufuhr, ein erhöhter Nährstoffverlust oder ein erhöhter Energiebedarf sein.

Im Folgenden werden noch einige spezielle Syndrome vorgestellt. Die DGEM definiert die **Kachexie** als ein multifaktorielles Syndrom, das unter anderem mit ungewolltem Gewichtsverlust, Schwäche, und einer Entzündungsreaktion einhergeht, wobei es zu einem Verlust der Fett- und Muskelmasse kommt (Valentini *et al.* 2013). Die **Sarkopenie** geht mit einem Schwund von Skelettmuskelmasse und Muskelkraft einher, der vor allem durch eine verringerte Mobilität im Alter bedingt ist (Valentini *et al.* 2013). Die **Anorexie**, welche mit Appetitlosigkeit übersetzt werden kann, beschreibt die Ursache der Fehlernährung durch

unzureichende Nahrungsaufnahme (Pirlich *et al.* 2003). **Kwashiorkor** beschreibt einen Proteinmangel bei akutem Stresszustand mit nur mäßigem Energiemangel, während **Marasmus** den Endzustand bei verringerter Energiezufuhr und erschöpften endogenen Protein- und Energiereserven darstellt (Suter 2008).

Die vorliegende Arbeit befasst sich vorwiegend mit der Diagnose einer Unterernährung durch Haaranalysen, indem die Haare von Personen untersucht werden, bei denen aufgrund verringerter Energiezufuhr eine Unterernährung durch die Rechtsmedizin diagnostiziert wurde.

II.5.2.2 Klinische Hinweise und Anthropometrie

Es gibt zahlreiche Methoden, um eine Unterernährung zu diagnostizieren. Neben der Anamnese, Ernährungstagebüchern oder Fragebögen kann die körperliche Untersuchung einen ersten Hinweis auf einen Nährstoffmangel geben. So kann eine Blässe der Konjunktiven und der Haut auf einen Eisenmangel hindeuten und ein vermehrter Haarausfall kann durch einen Proteinmangel ausgelöst werden (Suter 2008).

Als erster orientierender Parameter dient das **Gewicht**. Ein unbeabsichtigter Gewichtsverlust von mehr als 10 % innerhalb von sechs Monaten spricht für eine krankheitsbedingte **Mangelernährung** (Pirlich *et al.* 2003). Eine einfache Methode, den **Ernährungsstatus** zu quantifizieren, ist der Body-Mass-Index (**BMI**), der ermittelt wird, indem das Gewicht durch die Körperhöhe zum Quadrat geteilt wird (Einheit kg/m^2). Er korreliert zwar relativ gut mit dem Gesamtkörperfett, ist jedoch auch fehleranfällig, da ein hohes Gewicht ebenso durch Wassereinlagerung (Ödeme) oder hohe Muskelmasse (z. B. bei Athleten) zustande kommen kann und somit den BMI erhöht (Biesalski *et al.* 2017). Gerade bei stark unterernährten Personen kommt es oft zu Proteinmangelödemen, wodurch der BMI tendenziell zu hoch geschätzt wird (Butler *et al.* 2017). Der empfohlene BMI ist altersabhängig und für Erwachsene in Tabelle 3 aufgeführt. Für Kinder wiederum gelten andere Normwerte. Bei Erwachsenen spricht man ab einem BMI kleiner $18,5 \text{ kg}/\text{m}^2$ von einer **Unterernährung**, bei Kindern, wenn sie die 10. Perzentile ihrer Altersklasse unterschreiten (Pirlich *et al.* 2003).

Tabelle 3: Altersabhängige Normwerte für den BMI nach Biesalski *et al.* (2017).

Alter	BMI (kg/m^2)	Alter	BMI (kg/m^2)	Alter	BMI (kg/m^2)
19–24 Jahre	19–24	35–44 Jahre	21–26	55–64 Jahre	23–28
25–34 Jahre	20–25	45–54 Jahre	22–27	über 64 Jahre	24–29

Neben dem BMI kann zudem die **Trizephshautfalte** (THF) untersucht werden, um über das Unterhautfettgewebe auf den **Körperfettanteil** zu schließen. Gegenüber anderen Hautfalten ist

sie leicht zugänglich für die klinische Untersuchung. Unterschreitet sie die 10. Perzentile einer Referenzpopulation, spricht dies für eine Unterernährung (Pirlich *et al.* 2003).

Eine Möglichkeit auf das **Fettverteilungsmuster** zu schließen, bietet das **Tailen-Hüft-Verhältnis**. Ist es größer 0,88 für Frauen bzw. 1,0 für Männer, liegt ein androides respektive abdominelles Verteilungsmuster vor, welches mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergeht (Biesalski *et al.* 2017).

Um die Muskelmasse abschätzen zu können, kann eine Oberarm-Umfangmessung durchgeführt werden, welche durch Fett und Muskelmasse beeinflusst wird. Unter Berücksichtigung der THF, die mit dem Körperfett korreliert, kann über die errechnete Armmuskelfläche (Querschnitt durch den Oberarm) Rückschlüsse auf den **Proteinbestand** gezogen werden (Pirlich *et al.* 2003).

Um im rechtsmedizinischen Kontext eine Unterernährung mit Todesfolge festzustellen, können bei einer Autopsie neben den oben genannten anthropometrischen Daten noch Hinweise auf einen Schwund des Unterhautfettgewebes, des Organfetts (z. B. kein Nierenfettlager, kein mesenteriales Fett) und eine Muskelatrophie untersucht werden. Außerdem muss eine Tumorkachexie ausgeschlossen werden (Madea 2015).

II.5.2.3 Laborchemische Verfahren

Viele Laborparameter können bei Mangelernährung von der Norm abweichen. Einen spezifischen Laborwert, dessen Veränderung eindeutig auf eine Mangelernährung hinweist, gibt es jedoch nicht. Zu beachten ist auch, dass viele Krankheiten (v. a. Leber-, Nieren- und Stoffwechselerkrankungen) großen Einfluss auf die Laborwerte haben und daher immer mehrere Werte bestimmt und im Rahmen der Grunderkrankung interpretiert werden sollten (Suter 2008). Häufig werden Albumin und Retinol-Bindendes-Globulin (RBG) im Blut bestimmt, um eine **Mangelernährung** zu überprüfen. Es gibt jedoch eine Reihe von weiteren Ursachen, die zu einem verringertem Albuminspiegel führen können und vorher ausgeschlossen werden sollten (Suter 2008).

Eine wichtige Methode, um einen **Eiweißmangel** zu diagnostizieren ist die Analyse der Stickstoff-Ausscheidung im 24 h Sammelurin. Bei bedarfsgerechter Ernährung und normaler Stoffwechsellage beträgt die durchschnittliche Stickstoff-Ausscheidung 5-12 g/d. Wenn die Ausscheidung die Zufuhr um 25 % übersteigt, spricht man von einer negativen Stickstoffbilanz, wobei 1 g Stickstoff-Verlust den Körpereweiß-Pool um 6,25 g verringert (Suter 2008). Unter der Voraussetzung einer normalen Nierenfunktion und Ernährung kann die **Muskelmasse**

durch die Kreatinin-Ausscheidung im 24 h Sammelurin abgeschätzt werden, da Kreatin fast ausschließlich im Muskel und in einer bestimmten Konzentration pro kg Muskelgewebe vorkommt, konstant ans Blut abgegeben wird, nichtenzymatisch und irreversibel in Kreatinin umgewandelt wird und konstant über die Niere ausgeschieden wird (Pirlich *et al.* 2003).

Zur Abklärung eines **spezifischen Nährstoffmangels** kann die Menge an Vitaminen, Spurenelementen und Mineralstoffen sowie weiterer essenzieller Nahrungsbestandteile im Blut analysiert werden (Pirlich *et al.* 2003).

II.5.2.4 Apparative Verfahren

Die gebräuchlichste apparative Methode ist die Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA). Als kostengünstige und schnelle Methode errechnet sie die Körperzusammensetzung über die Widerstandsmessung des Körpers bei schwachem Wechselstrom. Dadurch kann das Ganzkörperwasser, die extrazelluläre Flüssigkeit, die fettfreie Masse, die Fettmasse und die Körperzellmasse über Algorithmen errechnet werden. Da jedoch keine Standardisierung existiert und die Ergebnisse je nach verwendeter Regressionsgleichung teils erheblich voneinander abweichen, sind die Ergebnisse im Kontext der Vergleichsgruppe zu interpretieren (Pirlich *et al.* 2003; Suter 2008).

Speziellen Fragestellungen vorbehaltene Methoden sind unter anderen die DEXA (dual energy x-ray absorptiometry), Computertomographie, Magnetresonanztomographie, Kalorimetrie oder die Isotopendilution, bei der die Verteilung bzw. Verdünnung von Isotopen (z. B. Deuterium) in den Körperkompartimenten gemessen wird und dadurch ein Rückschluss auf die Körperzusammensetzung gezogen werden kann (Suter 2008).

II.5.2.5 Diagnose mittels Analyse stabiler Isotope von Haaren

Ein großer Nachteil der vorstehend beschriebenen Methoden ist, dass sie nur den Status einer Unterernährung diagnostizieren, jedoch nur bedingt Aussagen zum Verlauf treffen können. Da Haare kontinuierlich wachsen und die Zellen nach ihrer Keratinisierung nicht mehr stoffwechselaktiv sind, fungieren sie wie ein Ernährungstagebuch, indem sie die Isotopenzusammensetzung zum Zeitpunkt ihrer Bildung wiedergeben (Neuberger 2013; Petzke *et al.* 2005a). Dieser Umstand erlaubt es, bei bekannter Wachstumsgeschwindigkeit, je nach Haarlänge für einen längeren Zeitraum die Veränderungen der Isotopenzusammensetzung und damit die inkorporierte Nahrung nachzuvollziehen. Hobson *et al.* (1993) konnten zudem anhand von Vogelfedern zeigen, dass Fasten bzw. metabolischer Stress dazu führen, dass sich

das ^{15}N -Isotop im Gewebe anreichert (vgl. Kapitel II.4.2). Somit können auch Phasen der Unterernährung detektiert werden.

Da im Haarfollikel eine sehr hohe Zellteilungsrate stattfindet und die Keratinozyten eine hohe Proteinsyntheserate vorweisen, reagieren Haare bei Veränderungen besonders sensibel und sind daher ein guter Indikator für metabolischen Stress (Bradfield 1971; Neuberger 2013; Trüeb 2003). Als Probenmaterial sind sie zudem leicht und nicht invasiv zugänglich. Ein weiterer Vorteil ist, dass das Keratin relativ unempfindlich gegenüber Umwelteinflüssen ist (Mekota *et al.* 2009). Dieses biologische Quellenmaterial kann daher über viele Jahrzehnte asserviert werden und ist, wie sich im Rahmen dieser Arbeit gezeigt hat, selbst nach einer Exhumierung von Verstorbenen nach über 70 Jahren teilweise noch gut erhalten und daher für die Ernährungsrekonstruktion zugänglich. Die Wahrscheinlichkeit, dass sterbliche Überreste erhalten bleiben, hängt dabei von verschiedenen Faktoren ab, beispielsweise Umwelteinflüssen oder der Bestattungssituation (Grupe *et al.* 2015). Die oben genannten Vorteile machen das Haar gerade im forensischen Bereich, aber auch in der historischen Anthropologie, zu einem wertvollen Biomarker, um den Ernährungsstatus einer Person zu untersuchen und den Verlauf der Unterernährung zu rekonstruieren.

Anfänglich wurde, um eine Protein-Mangelernährung mittels Haaranalysen zu detektieren, die Haarwurzelmorphologie untersucht. Es zeigte sich, dass sich bei Proteindeprivation der Schaftdurchmesser verringert und die Anagen-Wurzel dysplastisch wird (Bradfield 1971; Sims 1968). Anhand eines Trichogramms, also der Analyse des Anteils wachsender (Anagen-) Haare und nicht wachsender (Katagen- und Telogen-) Haare, können Rückschlüsse auf die Krankheitsaktivität gezogen werden (vgl. auch Kapitel II.6.1.4) (D'Ortenzio *et al.* 2015). Hierdurch sind jedoch nur bedingt Aussagen zum Verlauf möglich. Mekota *et al.* (2009) und Neuberger *et al.* (2013) nutzten die Haaranalyse erfolgreich, um den Verlauf einer Unterernährung bzw. die Erholungsphase nach einer Unterernährung nachzuvollziehen. Dabei steigt der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert durch den internen Trophiestufeneffekt an. Dieser kommt zustande, da bei Unterernährung körpereigenes Muskelgewebe abgebaut wird, um den Aminosäurepool aufrecht zu erhalten. Aminosäuren sind für zahlreiche Stoffwechselprozesse nötig. Um das für den Körper schädliche Abbauprodukt Ammoniak zu minimieren, leistet sich der Körper den relativ energieaufwendigen Harnstoffzyklus, indem er die Aminogruppen in Form von Harnstoff bindet und über die Nieren ausscheidet (Biesalski *et al.* 2017). Entscheidend für den Trophiestufeneffekt ist, dass hierbei gegen das schwere Isotop ^{15}N diskriminiert wird und vor allem ^{14}N ausgeschieden wird (Grupe *et al.* 2015). Die Beobachtung von Petzke *et al.* (2006)

unterstützt diese Annahme, da sie bei Patienten mit Leberzirrhose, die bekanntlich mit einer verminderten Syntheseleistung der Leber einhergeht, niedrigere $\delta^{15}\text{N}$ -Werte in den Haaren gefunden haben. Normalerweise reichert sich das schwere Isotop (durch vermehrte Ausscheidung des leichten Isotops über den Harnstoffzyklus) im Gewebe an und führt zu einer Erhöhung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte im Haarkeratin, wenn für dessen Synthese bei Nahrungskarenz Muskelprotein abgebaut wird. Durch diesen Anstieg kann eine Unterernährung detektiert werden (Neuberger 2013). Mit dem stabilen Isotop Kohlenstoff verhält es sich analog, nur dass der Effekt weit weniger ausgeprägt ist, da der Fraktionierungsfaktor relativ gering ist (Grupe *et al.* 2015). Zudem kommt der Kohlenstoff in allen Nahrungsbestandteilen (Fette, Proteine, Kohlenhydrate) vor und beschränkt sich nicht auf die Proteine. Kohlenstoffisotopen eignen sich daher vor allem zur Ernährungsrekonstruktion (vgl. Kapitel II.4.2), jedoch nur bedingt bei Unterernährung. Hobson *et al.* (1993) konnten keine Veränderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bei Unterernährung feststellen. Bei Mekota *et al.* (2009) zeigte sich, dass sich der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert nach Beendigung einer Unterernährung und Normalisierung der Ernährung erhöhte. Die Vorgängerstudie von Neuberger (2013) konnte keine hinreichende Aussage bezüglich der Veränderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bei Unterernährung treffen, da die Werte widersprüchliche Ergebnisse lieferten. Neuberger (2013) vermutete jedoch, dass der Kohlenstoff bei Unterernährung aus dem Fettgewebe, welches mit ^{12}C angereichert ist und daher niedrigere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aufweist, rekrutiert wird und daher der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert je nach Phase der Unterernährung und Ausprägung der Lipolyse schwankt. In der vorliegenden Arbeit wurden daher die verschiedenen Gewebe (von an Unterernährung Verstorbenen) untersucht, um den Ursprung des Kohlenstoffs aus dem Haarkeratin und die Veränderung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts zu entschlüsseln. Weiterhin wurde ein Augenmerk auf die Elimination von Störfaktoren gelegt.

Gerade die vorgenannten Probleme zeugen von der wissenschaftlichen Relevanz dieser Arbeit, um die Haaranalyse zur Detektion einer Unterernährung im forensischen Sinn korrekt interpretieren zu können.

II.5.3 Hungerstoffwechsel

II.5.3.1 Essenzielle Nahrungsbestandteile

Der Körper kann zur Aufrechterhaltung seiner Funktionen auf die oben beschriebenen Energiespeicher zurückgreifen und diese je nach Bedarf ineinander umwandeln. Benötigt der Körper z. B. vermehrt Aminosäuren, um Bluttransportproteine wie Albumin oder das Keratin für das Haarwachstum zu synthetisieren, kann er primär das Muskelprotein abbauen. Er ist jedoch auch in der Lage, Aminosäuren selbst zu synthetisieren, beispielsweise aus Produkten

der Glykolyse (Horn 2018). Gerade bei Unterernährung ist es daher eine besondere Herausforderung, die Herkunft der Isotope (über deren Fraktionierung) massenspektrometrisch zu bestimmen.

Ein Erwachsener benötigt täglich mindestens 0,8 g/kg KG (Körpergewicht) Protein am Tag und davon mindestens 20 % essenzielle Aminosäuren (Valin, Leucin, Isoleucin, Lysin, Methionin, Threonin, Tryptophan, Phenylalanin). Kinder, Kranke und Schwangere haben wegen einer vermehrten Syntheserate einen höheren Bedarf, ebenso wie Vegetarier, da das pflanzliche Protein eine ungünstigere Zusammensetzung der Aminosäuren im Vergleich zum tierischen aufweist (Pape *et al.* 2018). Anders als bei Proteinen empfiehlt die WHO für Fette und Kohlenhydrate keine tägliche Mindestmenge (Königshoff & Brandenburger 2018). Für Proteine gilt nämlich ein obligater täglicher Proteinverlust von mindestens 24 g (selbst bei proteinfreier Ernährung), der über die Nahrung kompensiert werden muss (Biesalski *et al.* 2017). Weiterhin kann der Körper überschüssige Proteine nicht kurzfristig speichern und baut sie daher unter Energiegewinnung ab (Königshoff & Brandenburger 2018). Durch den ständigen Auf- und Abbau von Proteinen gibt es eine tägliche ‚*Turnover-Rate*‘ von 3,0-3,5 g Eiweiß/kg KG/Tag (Suter 2008). Der Aminosäurepool ist in Abbildung 1 dargestellt. Der überwiegende Teil (70-80 %) der freien Aminosäuren ist im Muskel lokalisiert, während sich nur ein kleiner Teil im Blutplasma befindet (Biesalski *et al.* 2017).

Von den 21 proteinogenen Aminosäuren (inkl. Selenocystein) müssen die oben genannten essenziellen Aminosäuren, bzw. die entsprechenden α -Ketosäuren, zwingend mit der Nahrung aufgenommen werden, da der Körper sie nicht selbst aus anderen Bestandteilen synthetisieren kann (Königshoff & Brandenburger 2018). Neben den essenziellen Aminosäuren gibt es noch die bedingt essenziellen Aminosäuren (Tyrosin, Cystein, Histidin und Arginin), die bei fehlenden Vorgängersubstraten nicht synthetisiert werden können (Rassow *et al.* 2012).

Unter den Fetten sind vor allem Linolsäure bzw. Linolensäure zu nennen, die zur Synthese von Arachidonsäure, und damit wichtiger weiterer Botenstoffe, essenziell sind (Pape *et al.* 2018). Weiterhin spielen Fette bei der Nahrungsaufnahme eine wichtige Rolle für die Absorption fettlöslicher Vitamine.

Neben den oben genannten Energielieferanten (Kohlenhydrate, Proteine, Fette) muss der Mensch unter anderem Wasser, Spurenelemente, Mineralstoffe und Vitamine über die Nahrung aufnehmen (Pape *et al.* 2018).

II.5.3.2 Phasen des Hungerstoffwechsels

Um auch zwischen den Mahlzeiten immer genügend Energie zur Aufrechterhaltung der Körperfunktionen bereitstellen zu können, existieren verschiedene Anpassungsmechanismen. Das Gehirn ist auf Glukose als Energieträger angewiesen und kann lediglich im Hungerzustand begrenzt auf Acetonkörper, die aus Fettsäuren in der Leber hergestellt werden, zurückgreifen (Rehner & Daniel 2010). Erythrozyten und das Nierenmark können lediglich Glukose verwerten, da ihnen die Enzymausstattung für die Verwertung von anderen Energieträgern fehlt (Löffler 1983). Die Herausforderung an den Organismus bei Nahrungsmangel ist daher, den Blutglukosespiegel weitgehend konstant zu halten. Ist die Nahrungskarenz kurz, greifen andere Mechanismen als bei mehrwöchigem Fasten. Der Hungerstoffwechsel lässt sich in fünf Phasen einteilen: postprandiale Phase, postabsorptive Phase (nach 5–12 Stunden), früher Hungerstoffwechsel (nach ca. 1–7 Tage), intermediärer Hungerzustand (nach 1–3 Wochen), prolongierter Hunger (über 3 Wochen) (Suter 2008). Fällt nach der Nahrungsaufnahme der Blutzuckerspiegel wieder ab, wird in der postabsorptiven Phase das in der Leber gespeicherte Glykogen freigesetzt. Ist dieses nach einigen Stunden (maximal 48 h) aufgebraucht, muss Glukose durch Glukoneogenese synthetisiert werden (Suter 2008). Das Muskelprotein würde nur ca. zehn Tage reichen, um den Glukosebedarf aufrecht zu erhalten (Pape *et al.* 2018). Da jedoch das Gehirn bei längerer Nahrungskarenz in der Lage ist, vermehrt in der Leber synthetisierte Ketonkörper zu verwerten, kann auch längeres Fasten überlebt werden (Biesalski *et al.* 2017). Bei prolongiertem Fasten übernimmt neben der Leber zudem die Niere bis zu 50 % der Glukoneogenese (Suter 2008). Der Stoffwechsel adaptiert sich also vom frühen Hungerstoffwechsel bis zum prolongierten Hunger dahingehend, dass zuerst unter vermehrtem Muskelproteinabbau Glukose synthetisiert wird und mit zunehmender Fastendauer vermehrt Fett abgebaut wird, um Ketonkörper herzustellen, die den Glukosebedarf vermindern und daher Muskelprotein sparen (Biesalski *et al.* 2017). Mit zunehmender Nahrungskarenz wird also weniger Protein abgebaut und mehr Fett als Energieträger verwendet. Nach Erschöpfung der Fettreserven wird das verbliebene Protein vermehrt abgebaut (Pape *et al.* 2018). Wenn jedoch das Körperprotein stark reduziert ist, werden auch der Herzmuskel und andere Organe abgebaut, um Energie bereitzustellen. Bei weiterer Nahrungskarenz kann es unter diesen Umständen zum Multiorganversagen und letztlich zum Tod kommen (Castellini & Rea 1992).

In Abbildung 2 ist die Adaptation an längere Nahrungskarenz durch Verwendung unterschiedlicher Anteile der Energieträger im Verlauf der Zeit grafisch dargestellt. Die Rekrutierung der Energiespeicher und Stoffwechselschritte zur Umwandlung in die Energieträger wird in Abbildung 3 gezeigt.

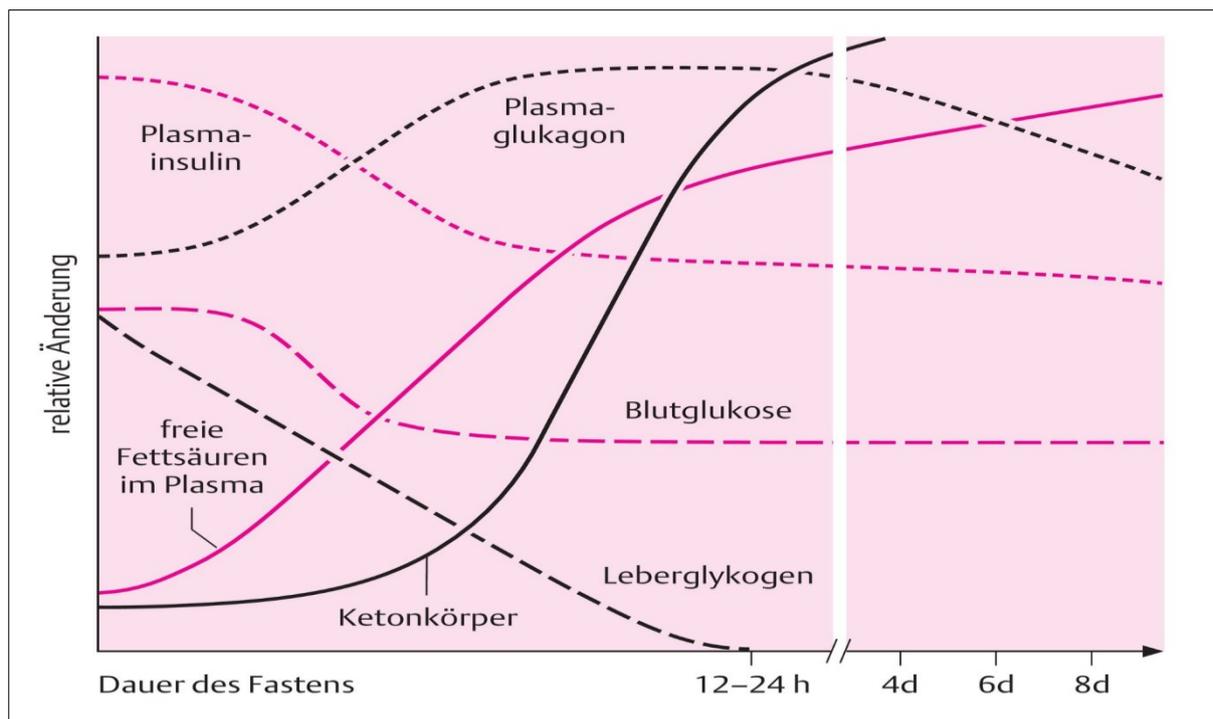


Abbildung 2: Relative Veränderung von Energieträgern bei Nahrungskarenz im Verlauf der Zeit (Grafik aus Suter (2008); mit freundlicher Genehmigung von Georg Thieme Verlag KG; © 2008 Georg Thieme Verlag KG).

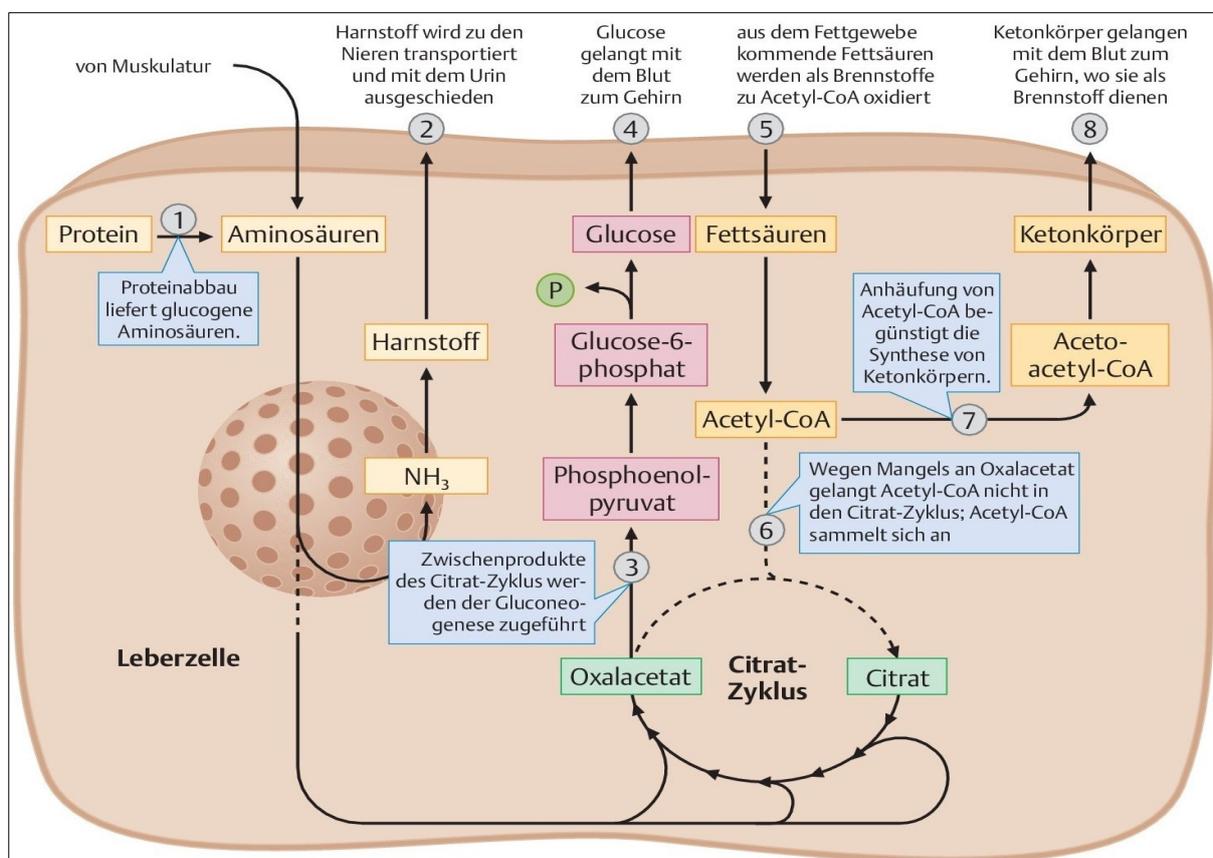


Abbildung 3: Übersicht des Hungerstoffwechsels in der Leber für verschiedene Energieträger (Grafik aus Biesalski *et al.* (2017); mit freundlicher Genehmigung von Georg Thieme Verlag KG; © 2017 Georg Thieme Verlag KG).

II.5.4 Genetische Aspekte bei Haaranalysen zur Ernährungsrekonstruktion

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Zwillingsstudie durchgeführt, um zu eruieren, ob es einen genetischen Einfluss auf die Isotopenwerte von Haaren gibt. Ansatzpunkte für eine genetische Variabilität wären zum einen physiologische Prozesse der Isotopenfraktionierung vor dem Einbau der Aminosäure in das Haar, also alle Prozesse von der Nahrungsaufnahme bis zur Ankunft des Isotops über die Blutbahn an der Haarpapille. Zum anderen kommen für eine genetische Variabilität die Prozesse bei der Synthese des Haares infrage (auf der Ebene der Keratinozyten oder Melanozyten).

Zum Erstgenannten ist in der Literatur nur wenig bekannt. Für Pflanzen ist bekannt, dass es einen genetischen Effekt auf die Isotopenfraktionierung von Kohlenstoff und Stickstoff gibt (Peuke *et al.* 2006). Für Menschen unterschiedlicher Ethnien ist bekannt, dass z. B. die BMI Normwerte oder die Hautfaltendicke zur Diagnose von Unter-, bzw. Überernährung angepasst werden müssen (Suter 2008). Obwohl die Haare bei den verschiedenen Ethnien viele Unterschiede aufweisen, ist die chemische Struktur und Aminosäurezusammensetzung des Keratins bei allen Menschen nahezu identisch (Tobin 2006). Die Haarfarbe, welche unter anderem durch Eu- und Phäomelanine der Melanozyten beeinflusst wird, ist komplex polygen determiniert (Wolff 2017). Yang *et al.* (2014) konnten mittels Röntgendiffraktometrie an Haaren zeigen, dass die Zellmembran bei eineiigen Zwillingen eine identische Struktur und bei zweieiigen Zwillingen eine unterschiedliche Struktur aufweist.

Einige Studien zeigen, dass es zwischen Ethnien deutliche Unterschiede bei den Isotopenwerten gibt und führen dies auf die unterschiedliche Ernährung zurück (Cooper *et al.* 2018; Valenzuela *et al.* 2018). Das Alter oder Geschlecht der Personen scheint jedoch bei der Isotopenvariation keinen Einfluss zu haben (Valenzuela *et al.* 2018).

II.6 Menschliches Gewebe als biologisches Quellenmaterial

II.6.1 Das Haar

Im Vergleich zu anderen Säugetieren ist der Mensch relativ wenig behaart (Trüeb 2003). Kopfhare haben jedoch eine wichtige soziale Bedeutung, da sie wesentlich zum äußeren Erscheinungsbild beitragen, einen Indikator für die Gesundheit darstellen und sogar politische Botschaften transportieren können (Raab 2012a). Biologische Bedeutung erlangen sie beispielsweise durch ihre Schutzfunktion vor UV-Strahlung oder den mechanischen Schutz

durch reflektorisches Zurückziehen des Kopfes bei einem Berührungsreiz am sensorisch innervierten Haar (Raab 2012a).

II.6.1.1 Anatomie

Der Großteil der Körperoberfläche ist mit Haaren bedeckt, lediglich Lippenrot, Handinnenseite, Fußsohle und Teile der äußeren Genitalien sind unbehaart (Schiebler & Korf 2007). Es werden Terminalhaar und Vellus unterschieden. Das Vellus ist dünn und marklos, während das Terminalhaar länger, dicker und pigmentiert ist. Hierzu zählt man Kopf-, Scham-, Bart- und Brusthaare sowie Wimpern und Brauen (Schiebler & Korf 2007). Die fetale Lanugo (Flaumhaar) wird später durch das Terminalhaar ersetzt (Witt 2007). Durchschnittlich ist das Terminalhaar ca. 120 µm dick und kann je nach Wachstumsgeschwindigkeit und Dauer der Anagenphase eine Länge von 11-144 cm erreichen (Raab 2012a).

Die Haare, Schweiß- und Talgdrüsen entstehen aus Einstülpungen der Epidermis, dem sogenannten Haarfollikel. Die Follikel sind über weite Areale gleichartig schräg (ca. 70°) in der Epidermis angeordnet, was den sogenannten Haarstrich (von kranial nach kaudal) ergibt (Raab 2012a). Haare sind meist in Linien und Dreiergruppen angeordnet (Schiebler & Korf 2007). Durchschnittlich finden sich ca. 200 Haare/cm², bei insgesamt ca. 5000000 Haarfollikeln, wovon ca. 500000 Terminalhaare tragen und 4500000 Vellus (Raab 2012a).

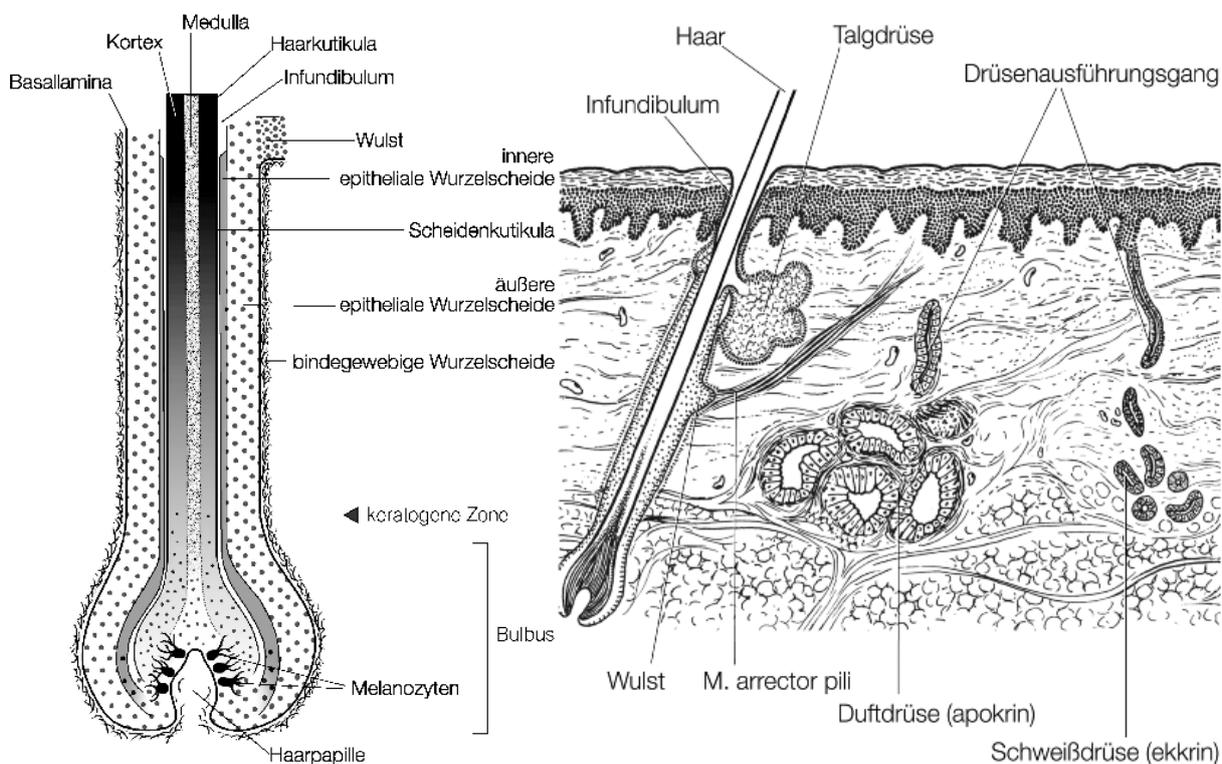


Abbildung 4: Anatomie des Haares (Grafik aus Schiebler und Korf (2007); mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature; © 2007 Springer Nature).

Das Haar kann anatomisch in einen intraepidermalen Bereich und in einen Abschnitt, der über die Epidermis hinausragt, eingeteilt werden. Der Follikeltrichter (Infundibulum) bildet hierbei die Grenze. Oberhalb mündet oftmals der Ausführungsgang der Schweißdrüsen, darunter münden die Talgdrüsen in den Haarkanal und es setzt der *M. arrector pili* an die äußere epitheliale Wurzelscheide an (Raab 2012a; Schiebler & Korf 2007).

Als Haarschaft bezeichnet man den vollständig verhornten Teil des Haares, der von innen nach außen in Haarmark (Medulla), Haarrinde (Kortex) und Kutikula eingeteilt werden kann. Die Medulla, welche nicht in allen Haaren vorhanden ist, besteht aus gering verhornten, pigmentierten Zellen und Lufteinschlüssen (Raab 2012a). Die keratinisierten Zellen des Kortex ordnen sich in ca. 100 µm langen Fasern an (Harkey 1993). Die Stabilität der Haare wird durch die dicke Kortexschicht mit ihren Keratinfilamenten gewährleistet. Die Zellen der Kutikula sind etwa 1 µm dick und ca. 45 µm lang und dienen dem Schutz der inneren Fasern (Harkey 1993). Sie sind dachziegelartig zur Spitze hin angeordnet und verzahnen sich mit gegenläufig angeordneten Zellen der inneren epithelialen Wurzelscheide, was zur Verankerung des Haares führt (Schiebler & Korf 2007). Angrenzend an die innere folgt die äußere epitheliale Wurzelscheide, die sich in die Epidermis fortsetzt, sowie die bindegewebige Wurzelscheide (Haarbalg), die wie die Papille Gefäße und Nerven enthält und der Versorgung des Haares dient (Schiebler & Korf 2007). Dem Haarschaft folgt zur Wurzel hin die keratogene Zone und der Haarbulbus (Schiebler & Korf 2007).

Die Basis des Haares bildet der Haarfollikel, welcher die Haarpapille (Fortsatz aus der Dermis mit Kapillaren) umfasst und damit den Haarbulbus (Haarzwiebel) bildet, der die Haarmatrixzellen enthält (Witt 2007). Zwischen den Matrixzellen, welche aus Stammzellen hervorgehen und zu Keratinozyten differenzieren, die wiederum zu Zellen aller Haaranteile werden, befinden sich die Melanozyten (Schiebler & Korf 2007). Diese verleihen dem Haar ihre Farbe, indem sie Melanosomen an die sie umgebenden Keratinozyten abgeben. Wird der Haarbulbus zerstört, ist keine Neubildung des Haares mehr möglich.

II.6.1.2 Wachstum

Anders als Nägel wachsen Haare nicht kontinuierlich, sondern in Zyklen. Dabei werden drei Phasen unterschieden: Anagen, Katagen und Telogen. Als grobe Faustregel gilt, dass beim Kopfhhaar die Anagenphase ca. 3 Jahre, die Katagenphase ca. 3 Wochen und die Telogenphase ca. 3 Monate dauert (Fritsch 2009). Dementsprechend befinden sich die meisten Kopfhhaare in der Anagenphase, nämlich ca. 85 % (Harkey 1993). Die restlichen, nicht mehr im Wachstum befindlichen Haare, machen ca. 15 % aus. Darunter befinden sich in der kurzen

Übergangsphase (Katagen) lediglich ca. 1 % (Madea 2004; Trüb 2003). Die Dokumentation, wie viele Haare in welcher Zyklusphase sind, nennt man Trichogramm. Die Erstellung eines Trichogramms kann wichtige Hinweise auf eine Erkrankung bzw. Unterernährung liefern (Bradfield 1972; Raab 2012a).

Die Regulation des Zyklus ist jedoch von vielen Faktoren abhängig und daher interindividuell und je nach Haartyp sehr verschieden. Die Zyklusphasen beim Menschen laufen asynchron, die Haare fallen also nicht gleichzeitig aus. Der Zyklus wird im Follikel gesteuert und bleibt daher auch nach einer Haartransplantation gleich (Fritsch 2009). Eine grafische Darstellung des Haarzyklus findet sich in Abbildung 5 und Abbildung 6.

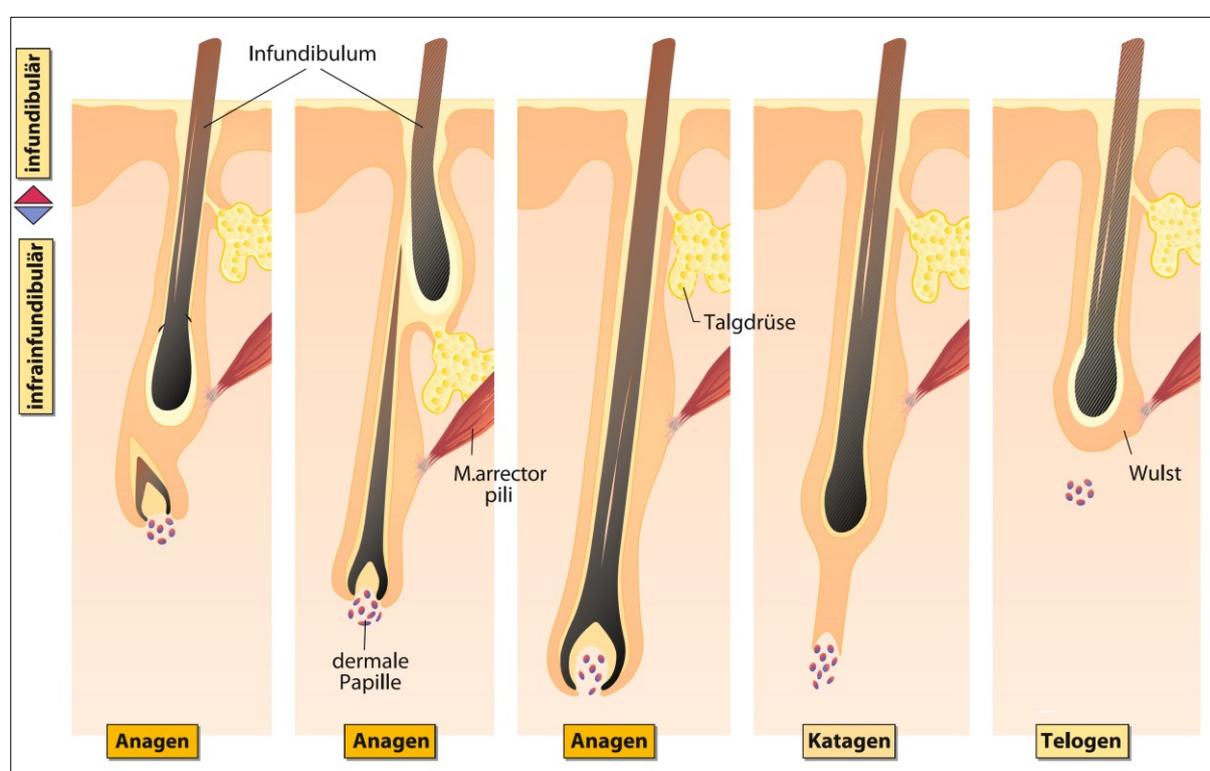


Abbildung 5: Zyklische Bildung eines neuen Haares (Grafik aus Fritsch (2009); mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature; © 2009 Springer Nature).

In der **Anagenphase** wird das Haar aktiv von den Matrixzellen gebildet, indem sie alle 24 Stunden in eine neue Mitose eintreten (Raab 2012a). Nach der Teilung differenzieren sie sich in Wurzelschaft oder -scheide. Die innere Wurzelscheide verhornt zuerst und wirkt dadurch formgebend (Fritsch 2009). Die Zellen des Schafts, die Kutikula, Kortex und Medulla bilden, nehmen an Volumen zu, verlängern sich und wandern zur keratogenen Zone, wo sie Keratin synthetisieren. Sie stellen allmählich die Synthese ein, dehydrieren und verhornen somit (Harkey 1993). Versorgt werden die Zellen in der physiologisch hochaktiven Anagenphase durch das Kapillarsystem, das den Bulbus umgibt (Harkey 1993). Die Haarlänge hängt von der

Dauer der Anagenphase und der Wachstumsgeschwindigkeit ab, welche in den meisten Publikationen für das Kopfhhaar mit ca. 1 cm/Monat angegeben wird (Fritsch 2009; Harkey 1993; Raab 2012a). Das Wachstum ist von vielen Faktoren abhängig, u. a. vom Geschlecht, Alter, Haartyp, Körperregion oder Ethnie (Harkey 1993). Betrachtet man alle Haare des Körpers, wird täglich eine Gesamthaarproduktion von 20-30 m erreicht (Raab 2012a).

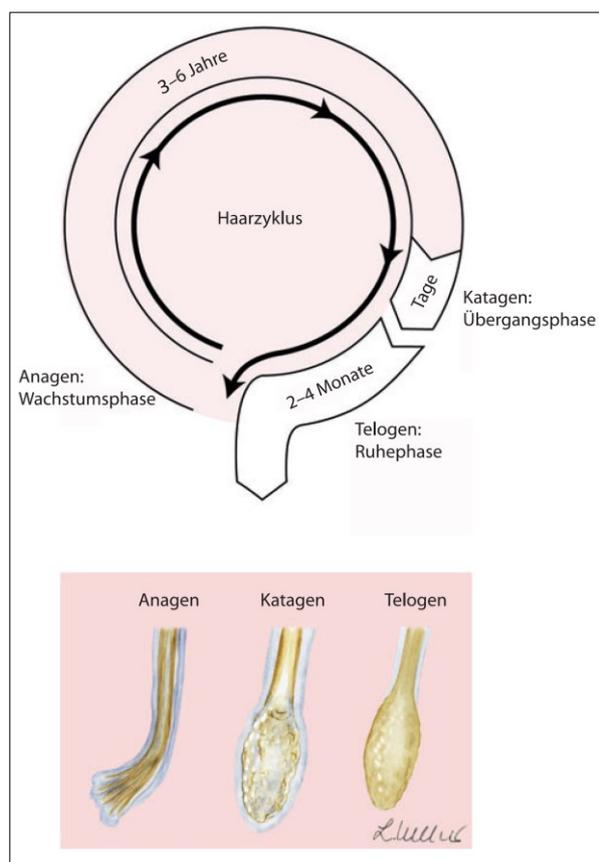


Abbildung 6: Haarwachstums-Zyklus und Haarwurzelmorphologie (Grafik aus Wolff (2017); mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature; © 2017 Springer Nature).

Die **Katagenphase** stellt die Umbauphase nach Beendigung des Wachstums dar. Als erstes wird die Melanogenese eingestellt, weshalb das letzte Stück unpigmentiert ist (Fritsch 2009). Bedingt durch synchronisierte Apoptosen erfolgt eine Regression. Der Follikel schrumpft auf ein Drittel seiner Länge und die Papille löst sich bis auf wenige Zellen auf. An der Basis des Schafts bildet sich ein verhornter Kolben (Wolff 2017).

In der **Telogenphase** wandert das Kolbenhaar unter Verbrauch der inneren Wurzelscheide nach außen und zieht den Follikel hinter sich her (Fritsch 2009). Mit der Zeit fällt das Telogenhaar durch mechanische Reize oder ein nachwachsendes Anagenhaar aus. Es befindet sich also noch einige Zeit in der Epidermis, nimmt aber nicht mehr aktiv am Stoffwechsel teil (Wolff 2017). Anschließend

beginnt die Anagenphase erneut, indem die Follikelstammzellen im Wulstbereich aktiviert werden und mit der dermalen Papille wieder nach unten wandern, wo sich ein neuer Bulbus, Wurzelscheiden und Kortex bilden (Fritsch 2009).

II.6.1.3 Biochemische Zusammensetzung

Das menschliche Haar besteht aus ca. 65-95 % Protein, 15-35 % Wasser, 1-9 % Fett und 0,25-0,95 % (bezogen auf das Trockengewicht) Mineralstoffen (Harkey 1993). Die Fette stammen vor allem von der an den Haarfollikel gebundenen Talgdrüse und bestehen vornehmlich aus Squalen, Wachsester und Triglyceriden (Fritsch 2009). Die integralen Fette nehmen ca. 0,7-1,3 % der Haarsubstanz ein, dienen als Kittsubstanz der verhornten Zellen und ähneln in der

Zusammensetzung der epidermalen Lipidschicht (Lee *et al.* 2005; Zahn 1989). Auf der Atomebene besteht das Haar zu 50 % aus Kohlenstoff, 23 % Sauerstoff, 17 % Stickstoff, 6 % Wasserstoff und 4 % Schwefel (Neuberger 2013; Raab 2012a).

Für diese Arbeit ist vor allem der Proteinanteil wichtig, welcher nach Entfernung des exogenen Lipids und Trocknung das wesentliche Analysat darstellt. Von dem verbliebenen Proteinanteil des Haares sind ca. 90 % dem Keratin zuzuordnen (Madea 2004). Zu den Nichtkeratinen zählen unter anderem Zellkernproteine, Proteine der Zellmembran oder Melanin (Zahn 1989). Im menschlichen Körper gibt es weiches (epidermales) und hartes Keratin (u. a. im Haar) (Yu *et al.* 1993). Keratin ist ein Intermediärfilament mit einer α -helikalen Stäbchendomäne und besteht im Haar aus saurem Typ I und basischem Typ II Keratin, die sich zu einem Dimer in Form einer Superhelix verdrehen (Zahn 1989). Zwei antiparallele Dimere bilden den Vierkettenkomplex und über weitere Verknüpfungen entsteht letztendlich das Intermediärfilament von ca. 10 nm Durchmesser (Koolman & Röhm 2019; Yu *et al.* 1993). Die Aminosäurezusammensetzung des Haares ist in Tabelle 19 aufgeführt. Als Literaturreferenz wurden die bei Yu *et al.* (1993) genannten Daten verwendet, wobei die in der vorliegenden Arbeit analysierten Haare auch als Standard gelten dürfen. Keratin enthält viel Cystein, was den hohen Schwefelgehalt erklärt und über Disulfidbrücken zur Stabilität des Haares beiträgt (Tobin 2006). Durch Ondulation (Haarwellung) können glatte Haare zu Locken geformt werden, indem durch chemische Reagenzien die Disulfidbrücken gelöst und wiederaufgebaut werden. Durch Lösung der Wasserstoffbrücken ist nur eine kurzfristige Wellung erzielbar (Raab 2012a).

Unter den Nichtkeratin-Proteinen ist das Melanin hervorzuheben, welches für die Haarfarbe verantwortlich ist. Je mehr Melanin eingelagert wird, desto dunkler der Farbton, wobei auch die Dichte und Art des Melanins sowie die Struktur und Dicke des Haares wichtige Einflussfaktoren auf die Haarfarbe darstellen (Raab 2012a).

Da Haare sehr stoffwechselaktiv sind, werden auch Gifte, Drogen und weitere Fremdstoffe eingelagert. Daher sind Haare auch im toxikologischen Kontext ein wichtiges Untersuchungsmaterial (Madea 2015; Raab 2012a).

II.6.1.4 Physiologie der Haare

Wie vorhergehend erwähnt, hat jedes einzelne Haar ein eigenes Netz von Blutkapillaren, welches das Haar mit Nährstoffen versorgt. Die Vaskularisierung ist notwendig, um die

ausgeprägte Syntheserate gewährleisten zu können. Durch die starke Stoffwechselaktivität reagiert das Haar sensibel auf sich ändernde Umweltbedingungen (Raab 2012a).

Daher ist eine Störung des Haarwuchses oft ein erstes Zeichen für eine Mangelernährung. Raab (2012a) gibt einen guten Überblick zu den Haarerkrankungen, die im folgenden Abschnitt zusammengefasst werden. Fehlen z. B. essenzielle Fettsäuren, Proteine, Eisen oder Zink, ist mit diffusem Haarausfall zu rechnen. Bei Kwashiorkor bilden sich pigmentlose und dünne Haare, die noch im Follikel leicht abbrechen. Gibt es nur einen periodischen Eiweißmangel, beobachtet man das Flaggenphänomen, also pigmentierte Abschnitte wechseln sich mit unpigmentierten Abschnitten ab. Bei Ascorbinsäuremangel kommt es durch Mangel an Disulfidbrücken zu Korkenzieher-Haaren. Bei Hungerzuständen verlangsamt sich das Haarwachstum und die Haare verbleiben länger im Telogenstadium, was wiederum die Haardichte vermindert.

Bei dem oben genannten telogenen Effluvium führen mittelstarke Noxen (z. B. Medikamente, u. a. Heparin) zur vorzeitigen Beendigung der Anagenphase, was zum vermehrten Haarausfall mit zwei- bis dreimonatiger Verzögerung führt (Wolff 2017). Bei physiologischem Stress kann der Anteil nicht wachsender Haare auf bis zu 60-70 % ansteigen (D'Ortenzio *et al.* 2015). Davon abzugrenzen ist das anagene Effluvium, z. B. im Rahmen einer Chemotherapie, bei dem der Haarausfall bereits nach ca. zwei Wochen einsetzt. Hierbei wird das Haarwachstum unterbrochen, aber bald wieder aufgenommen (reversibles Effluvium). Jedoch kommt es ohne Übertritt in die Telogenphase zu einer Schädigung des Follikels, sodass die Haare abbrechen und histologisch einer Bleistiftspitze ähneln (dystrophisches Haar) (Raab 2012a; Wolff 2017).

Während die oben genannten Mangelzustände vor allem die Haarmorphologie beeinflussen und wenig über den Verlauf aussagen, ist es für die Isotopenanalyse von Bedeutung, wann sich Veränderungen der Ernährung im Haar widerspiegeln. Da der Follikel bis ca. 4 mm unter die Hautoberfläche hineinragt, benötigt das Haar bei durchschnittlichem Wachstum ca. 6-12 Tage, um an der Oberfläche zu erscheinen (Madea 2004; Mekota *et al.* 2009; O'Connell & Hedges 1999a). Dies ist in etwa der Zeitraum, nachdem Mekota *et al.* (2009) eine Veränderung der Ernährung im abgeschnittenem Haar detektieren konnten. Dies spricht dafür, dass der Aminosäurepool, der die Haarfollikel zur Synthese des Keratins versorgt, zumindest bei starker Nahrungsumstellung unmittelbare Veränderungen der δ -Werte aufweist. Eine geringe bzw. kurzfristige Umstellung (unter einer Woche) führt zu einer Dämpfung des Signals im Haar durch den Aminosäurepool, sodass dies durch die analytische Limitierung nicht detektiert werden kann (Schwertl *et al.* 2003). Laut O'Connell und Hedges (1999a) dauert es (aufgrund

des Aminosäurepools im Körper) nach Nahrungsumstellung ca. 7-12 Monate bis die Isotopenwerte im Haar vollständig an die neue Nahrung angepasst sind.

II.6.1.5 Haare als Probenmaterial

Bei Haaren als Probenmaterial gibt es einige spezielle Anforderungen zu beachten. Wie vorangegangen bereits erklärt, variiert das Haarwachstum inter- und intraindividuell sehr stark. Möchte man also den genauen Zeitpunkt der Inkorporation wissen, muss man die Wachstumsgeschwindigkeit messen. Dies kann mittels Phototrichogramm geschehen, indem man die Haare auf ca. 1 mm abrasiert, die Stelle markiert und nach einer Woche überprüft, wie viele Haarstoppeln nicht gewachsen sind (Katagen-/Telogenphase), welche Haare gewachsen sind (Anagenphase) und wie viel die Haare gewachsen sind (Saitoh *et al.* 1970). So ermittelt man den Anteil wachsender Haare und deren Wachstumsgeschwindigkeit. In der Praxis ist dies jedoch oft nicht realisierbar, weshalb als Wachstumsgeschwindigkeiten meist Durchschnittswerte angenommen werden (vgl. ‚Retrospektiver Verlauf‘ auf Seite 52). Da bei Einnahme von Noxen oder Mangelernährung häufig veränderte Trichogramme auftreten (vgl. Kapitel II.6.1.4), sollten bei diesen Fragestellungen zumindest Haare samt Wurzel analysiert werden, um nicht wachsende Haare auszuschließen und somit eine maskierte Isotopen-Veränderung, durch den Dämpfungseffekt nicht-wachsender Haare, nicht zu übersehen.

Laut O'Connell und Hedges (1999a) wird der Isotopenwert nicht durch Shampoo, Umweltverunreinigungen, Haartyp (Kopf-, Bart-, Schamhaar) bzw. ergrautes, getöntes oder gefärbtes Haar beeinflusst, jedoch zeigte sich bei mit Färbe- und Bleichmittel behandeltem Haar eine geringe Veränderung des C/N-Verhältnisses, weshalb hier Vorsicht geboten ist.

Historische Haarproben wurden bereits in vielen Studien analysiert, um saisonale Ernährungsgewohnheiten oder physiologischen Stress in den letzten Monaten vor dem Tod zu identifizieren (D'Ortenzio *et al.* 2015; Neuberger *et al.* 2014; Neuberger *et al.* 2018). Haare werden nur von sehr wenigen Mikroorganismen abgebaut. Der stärkste Degradations-Faktor nach Diagenese ist der Abbau durch Pilze, welcher durch ovale Läsionen im Haarschaft detektiert werden kann (Saul 2017). Das Haarkeratin kann über Jahrtausende nahezu unverändert konserviert bleiben, wie Röntgenabsorptionsmessungen von Lubec *et al.* (1987) zeigen. Durch die Isotopenwerte können Informationen über die Ernährungsgewohnheiten ihrer einstigen Träger konserviert werden (Williams *et al.* 2011). Saul (2017) hat in einer post-mortem Studie zur Taphonomie der Haare herausgefunden, dass die Isotopenwerte von Stickstoff und Kohlenstoff nicht durch Umwelteinflüsse verändert werden, wohl aber die Isotopenwerte von Wasserstoff und Sauerstoff. Insbesondere wird das Verhältnis der

Strontiumisotope zur Herkunftsanalyse beeinflusst, welches sich nach längerer Diagenese an das Isotopenverhältnis des Bodens annähert (Saul 2017). Als Qualitätskriterium für intaktes, nicht verunreinigtes Keratin wird oft das C/N-Verhältnis herangezogen, welches bei rezentem Haar 3,4 beträgt. Bei historischen Haarproben sollten Proben außerhalb eines C/N-Verhältnisses zwischen 2,9-3,8 ausgeschlossen werden, jedoch ist auch ein C/N-Verhältnis in diesem Bereich kein Garant für intaktes Keratin (O'Connell & Hedges 1999a).

II.6.2 Weitere Gewebeproben

Um den internen Trophiestufeneffekt und die biochemischen Zusammenhänge zu erforschen, wurden neben Haaren noch weitere Gewebeproben analysiert, nämlich Unterhautfettgewebe, Muskelgewebe und Knochen. Während Haare Rückschlüsse über die aufgenommene Nahrung bzw. den Hungerstoffwechsel der letzten Monate erlauben, repräsentieren die Isotopensignaturen anderer Gewebe, durch unterschiedliche Halbwertszeiten ihrer Bildung bzw. Umwandlung, verschiedene Zeitspannen der Nahrungsinkorporation.

Bei einem Erwachsenen bestehen 40-50 % des Körpergewichts aus **Muskeln**, die wiederum ca. 60 % des gesamten Proteinbestandes beherbergen und davon wiederum ca. ein Drittel, ohne wesentliche Funktionseinschränkung, kurzfristig für den Bedarf anderer Organe (z. B. beim Hungerstoffwechsel) mobilisieren können (Rehner & Daniel 2010). Die häufigsten einer Vielzahl verschiedener Proteine sind Aktin und Myosin (zusammen ca. 75-90 %), welche aber selbst aufgrund einer Methylierung nicht zur Resynthese von Proteinen herangezogen werden können (Rehner & Daniel 2010). Alanin und Glycin sind die beiden Aminosäuren, die in überproportionalem Maße an das Blut abgegeben werden. Der eigentliche Aminosäureabbau findet in der Leber statt, lediglich die verzweigt-kettigen Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin werden vorrangig im Muskel oder der Niere verstoffwechselt (Rehner & Daniel 2010).

Knochen besteht zum Großteil (ca. 70 %) aus Mineral, gefolgt von Kollagen Typ 1 (ca. 21 %) (Grupe *et al.* 2015). Für die Fragestellung dieser Arbeit ist vor allem das Kollagen von Interesse, da es, wie das Keratin, ein Protein darstellt und damit Aussagen zur Isotopensignatur des Aminosäurepools machen kann. Während das Haar nach seiner Bildung nicht mehr am Stoffwechsel teilnimmt, wird Knochen stets umgebaut. Die jährliche Umbaurate von Knochenkompakta beträgt ca. 3-5 %, weshalb das Knochenkollagen zur Ernährungsrekonstruktion mittels stabiler Isotope einen Querschnitt der letzten Jahre darstellt (Grupe *et al.* 2015). Im Falle verhungerner Personen spiegelt das Haarkeratin also die

Isotopensignatur des Hungerstoffwechsels wider, während das Kollagen jene der letzten Jahre und somit des normalen Stoffwechsels bzw. Ernährung zeigt.

Das subkutane **Fettgewebe** dient vor allem der Energiespeicherung. Ein 70 kg schwerer Mensch hat ca. 15 kg Fettgewebe, davon 12 kg Lipidanteil, was einem Energiespeicher von 112800 kcal entspricht (Rehner & Daniel 2010). Im Fettgewebe findet der überwiegende Auf- und Abbau der Triglyceride (Glycerin und drei Fettsäuren) statt (Rassow 2016). Es stellt für die Ernährungsrekonstruktion mittels stabiler Isotope ein wichtiges Reservoir für Kohlenstoff dar, da es aus Fetten der Nahrung bzw. überschüssigen Energieträgern aufgebaut wird. Während Muskel, Knochen und Haare die Proteinfraction der Nahrung repräsentieren, spiegelt das Fettgewebe alle Nahrungsbestandteile wider. Wichtig im Kontext der Unterernährung ist, dass das subkutane Fettgewebe starken katabolen Mechanismen unterworfen ist, da es zur Deckung des Energiebedarfs abgebaut wird (vgl. Kapitel II.5.3.2). Eine Hypothese im Rahmen der Vorgängerstudie von Neuberger (2013) ist, dass bei Unterernährung zur Bereitstellung/Synthese der Aminosäuren für die Bildung des Haarkeratins auch Kohlenstoffatome aus dem Fettgewebe rekrutiert werden. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden im Rahmen dieser Arbeit die Isotopenwerte des Fettgewebes analysiert.

III MATERIAL UND METHODEN

III.1 Material

Das Erforschen des Hungerstoffwechsels stellt Wissenschaftler unter anderem auch vor ethische Probleme. Zwar sind kontrollierte Fastenstudien, wie sie Keys *et al.* (1950) durchführten, denkbar, jedoch sind für die Fragestellung dieser Arbeit gerade die Veränderungen während des Verhungerns und in der perimortalen Phase interessant. Hier ist eine Longitudinalstudie aus ethischen Gesichtspunkten nicht durchführbar, da sie die Gesundheit der Probanden stark gefährden würde. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher, wie auch schon bei der Vorgängerstudie von Neuberger (2013), auf Gewebeproben von Verstorbenen zurückgegriffen. Für alle Versuche mit rechtsmedizinischen Probanden sowie für die Analyse der Proben aus Hall in Tirol (siehe auch Kapitel III.1.3) liegt ein positives Votum der Ethikkommission der LMU vor (siehe Kapitel VII.4). Zudem konnte auf die Erkenntnisse der Vorgängerstudie von Mekota *et al.* (2006) und Mekota *et al.* (2009) zurückgegriffen werden, die einen innovativen Versuchsansatz etablierten, indem sie die Veränderungen bei Unterernährung retrospektiv bei Patienten mit *Anorexia nervosa* erforschten und nachweisen konnten, dass sich die Isotopen-Werte nach Therapie der Unterernährung veränderten.

III.1.1 Rechtsmedizinische Proben

Anders als noch bei der Vorgängerstudie von Neuberger (2013) wurden die Probeentnahme und die Kriterien präzisiert, um sicherzustellen, dass es sich bei den Probanden um unterernährte Verstorbene handelt. Einschlusskriterien für rechtsmedizinischen Probanden war ein unterernährter Zustand, der auf mangelnde Nahrungsaufnahme zurückzuführen war. Ausschlusskriterium war ein Gewichtsverlust durch auszehrende Erkrankungen (z. B. Tumorkachexie), da die Ergebnisse nicht durch pathologische Stoffwechselentgleisungen bzw. vermehrten Energieverbrauch beeinflusst werden sollten. Daher wurden auch Probanden mit Erkrankungen des Aminosäurestoffwechsels ausgeschlossen. Chronische Erkrankungen (z. B.

COPD) wurden nur toleriert, wenn sie aus rechtsmedizinischer Sicht für den kachektischen Zustand nicht ausschlaggebend waren. Im Rahmen dieser Arbeit konnten verschiedene Gewebeproben der in Tabelle 4 aufgeführten Verstorbenen untersucht werden. Die Probenentnahme erfolgte durch einen Arzt des rechtsmedizinischen Instituts der LMU München. Damit niemand auf die persönlichen Daten der Verstorbenen schließen kann, wurden die Gewebeproben von der Rechtsmedizin mit anonymisierten Daten übermittelt. Die für diese Studie relevanten Autopsiedaten und durch Fremdanamnese erhobenen Informationen sind unter den Anmerkungen in Tabelle 4 aufgeführt.

Das Probandenkollektiv ist mit 74 Jahren im Durchschnitt relativ alt, wobei die Spanne von 29 bis 101 Jahre weit gestreut ist. Der durchschnittliche BMI beträgt 15 kg/m^2 (Minimum $10,3 \text{ kg/m}^2$, Maximum $23,3 \text{ kg/m}^2$) und ist für alle Probanden im altersabhängigen unterernährten Bereich (vgl. Kapitel II.5.2.2).

Von Personen, welche die oben genannten Kriterien erfüllten, wurden Haar-, Nagel-, Fett-, Muskel- und Knochenproben genommen. Mindestanforderung für die Beprobung eines Verstorbenen war die Gewinnung von Material für eine Haaranalyse (ca. 100 Haare mit mind. 3 cm Länge). Idealerweise wurden ausreichend Haare für vier Haaranalysen und alle weiteren Gewebe beprobt. Bei einigen Verstorbenen konnte dies jedoch nicht erreicht werden, da z. B. kein subkutanes Fettgewebe oder aufgrund eines Effluviums kaum Kopfhare zur Beprobung vorhanden waren. Eine Übersicht über die gewonnenen Proben bei den verschiedenen Probanden bietet Tabelle 11.

Probenentnahme

Die Probenentnahme erfolgte durch einen Arzt für Rechtsmedizin im Rahmen der Obduktion nach dem folgenden Protokoll:

Im Bereich der *Protuberantia occipitale* am *Os occipitale* wird ein ca. $1\text{-}2 \text{ cm}^2$ großes Areal der Kopfhaut beprobt, sofern sich mindestens 30, idealerweise über 400 Haare darauf befinden. Die behaarte Kopfhaut wird bis zur weiteren Bearbeitung vakuumverpackt und tiefgefroren, um ein Fortschreiten der Verwesung zu verhindern. Das *Os occipitale* wird als Ort gewählt, da die Stelle leicht auffindbar ist, meist noch behaart ist und die Vergleichbarkeit mit anderen Studien (z. B. Neuberger (2013)) gegeben ist. Von jeder Leiche wird zudem der freie Nagel eines Zeigefingers asserviert, indem er vakuumverpackt wird. Knochen-, Muskel- und Fettgewebe werden an einer Rippe beprobt, indem parasternal eine ca. 100 g schwere Gewebeprobe, bestehend aus Rippe mit angrenzenden *Mm. intercostales* und subkutanem

Fettgewebe entnommen wird. Diese Stelle wird gewählt, da bei der Sektion ohnehin der Brustkorb eröffnet werden muss und eine Probenentnahme an dieser Stelle keinen Mehraufwand bedeutet, die Integrität des Leichnams nicht unnötig verletzt wird und damit die Würde des Verstorbenen gewahrt bleibt. Das entnommene Gewebe wird ebenfalls bis zur weiteren Bearbeitung vakuumverpackt und tiefgefroren.

Von allen oben genannten Proben (behaarte Kopfhaut, Nagel, Knochen-, Muskel-, Fettgewebe) wurde zusätzlich jeweils eine weitere Probe entnommen und in 10 prozentigem Formalin fixiert und asserviert, um für evtl. zukünftig beabsichtigte Folgestudien oder Nachuntersuchungen ausreichend Material vorzuhalten.

Tabelle 4: Übersicht der rechtsmedizinischen Proben; w: weiblich, m: männlich, TU: Todesursache, V. a.: Verdacht auf, Z. n. Zustand nach, AZ Allgemeinzustand.

Probe	Geschlecht	Alter [Jahre]	Größe [m]	Gewicht [kg]	BMI [kg/m ²]	Anmerkungen der Rechtsmedizin
1	w	88	1,42	32	15,87	TU V. a. Aspiration, Demenz.
2	m	54	1,71	37	12,65	TU V. a. Stoffwechsellage bei massiven Fasten, seit Jahren Veganer, mehrfaches Fasten im Jahr, letzte Fastenkur ohne Aufnahme von Nahrung und Flüssigkeit, Gewichtsverlust von 70 kg auf 46 kg binnen 29 Tage, dann wieder Nahrungsaufnahme für fünf Tage, verstirbt nach weiteren zehn Tagen Fasten.
3	m	73	1,76	32	10,33	TU Aspiration von Speisebrei, Z. n. Schädel-Hirn-Trauma, zunehmend Einstellung der Nahrungsaufnahme, gepflegt, bettlägerig.
4	m	70	1,63	41	15,43	TU Blutung aus Duodenalgeschwür, in den letzten Wochen zunehmender Appetitverlust und körperlicher Verfall/Gewichtsverlust.
5	w	79	1,59	59	23,34	trotz normalem BMI kachektisch/exsikkiertes Eindrücke, TU Bronchopneumonie, sehr schlechter Pflegezustand.
6	w	94	1,48	34	15,52	V. a. Herztod, zwei Monate prä-mortale Reduktion von Trinkmenge und Nahrungsaufnahme; Fäulnis.
7	w	84	1,58	36	14,42	TU vermutlich ein Kombinationsgeschehen aus eitriger Tracheobronchitis bei eitrigem Durchliegegeschwüren, schlechter Pflegezustand, sie habe noch etwas gegessen (geringer Magen- und Darminhalt), war aber deutlich exsikkiert; Fäulnis.
8	w	64	1,56	29	11,92	V. a. Tod bei Verhungern/Verdursten, bettlägerig und pflegebedürftig, kaum noch Muskulatur an Armen und Unterschenkeln; Fäulnis.
9	m	70	1,76	47	15,17	lebte zurückgezogen, kein Arztkontakt, beginnende Fäulnis.
10	m	82	1,64	49	18,22	lebte zurückgezogen, kein Arztkontakt, kachektischer Körperbau, sehr schlechter Ernährungszustand, vernachlässigter AZ; beginnende Fäulnis.
11	w	91	1,65	43	15,79	Demenz, Tetraplegie und Apoplex, Fäulnis.
12	w	68	1,65	32	11,75	TU V. a. Unterkühlung, Kachexie scheint mit einer psychischen Krankheit in Verbindung zu stehen; Fäulnis.
13	w	62	1,55	36	14,98	TU V. a. Unterkühlung, kachektisch.
14	w	27	1,62	42	16,00	TU V. a. Intoxikation, V. a. Bulimie.
15	m	83	1,67	41	14,70	V. a. Ileus, außerdem erhebliche COPD, Reduzierter AZ, aber angeblich normale Ernährung, in den letzten Tagen Verschlechterung des AZ, Appetitlosigkeit; beginnende Fäulnis.
16	m	101	1,74	43	14,20	TU eitriges Bronchitis und beginnende Pneumonie, guter Pflegezustand, herabgesetzter AZ, in den letzten 3-4 Wochen deutliche Schwäche, kaum noch etwas gegessen und getrunken.
MW	44 % m	74	1,63	40	15,02	
Median		76	1,64	39	15,08	
Min		27	1,42	29	10,33	
Max		101	1,76	59	23,34	

III.1.2 Haare von Zwillingspaaren

Die Haarproben von Zwillingspaaren wurden dankenswerterweise von Frau Dr. Angelika Burkhardt für diese Studie zur Verfügung gestellt. Sie wurden 1983/84 am Humanbiologischen Institut der Technischen Universität Braunschweig im Rahmen morphologischer Studien „Zur Farbe und Struktur der menschlichen Iris“ von Dr. Angelika Burkhardt (1992a, 1992b) gesammelt. Aus dem umfangreicheren Material wurden die Haare von 20 di- und 20 monozygoten Zwillingspaaren ausgewählt und untersucht, insgesamt also 80 Haarsträhnen (Benda 2015). Es handelt sich um Haarsträhnen mit je ca. 50 Haaren von etwa 5-10 cm Länge, die nahe der Kopfhaut abgeschnitten wurden. Der Altersbereich der Probanden wurde von fünf bis vierzehn Jahre gewählt, um Umwelteinflüsse so gering wie möglich zu halten. Dies liegt in der Annahme begründet, dass Zwillinge in diesem Alter eine ähnliche Nahrungsaufnahme im Familienverbund haben und daher die Variabilität der Messwerte nicht durch unterschiedliche Ernährung bedingt ist. Tabelle 12 im Anhang zeigt eine Übersicht der einzelnen Proben.

III.1.3 Haare von der archäologischen Grabung

Im Zuge von Bauarbeiten auf dem Gelände des ‚Landeskrankenhauses Hall‘ bei Innsbruck in Österreich wurden über 223 Gräber eines ehemaligen Friedhofs exhumiert, dessen Existenz in Vergessenheit geraten war (Carlichi-Witjes 2016). Bei Umzugsarbeiten im Jahr 2010 wurde ein Gräberverzeichnis gefunden, welches die Bestattungen von 214 Patienten und 14 ehemaligen Altenheim-Bewohnern der früheren Heil- und Pflegeanstalt Hall dokumentierte. Da es sich um einen aufgelassenen Friedhof einer psychiatrischen Anstalt mit Belegungszeitraum von 1942 bis 1945 handelte, also zur Zeit des Nationalsozialismus, gab es den Verdacht, dass es sich um Opfer der dezentralen Euthanasie (vgl. Kapitel II.3.2) gehandelt haben könnte (Perz *et al.* 2014). Die heutige Betreibergesellschaft ‚Tirol Kliniken‘ (ehemals TILAK – Tiroler Landeskrankenanstalten GmbH) startete daher das interdisziplinäre Projekt „zur Bergung und Untersuchung des Anstaltsfriedhofs“, im Rahmen dessen Archäologen, Historiker, Sozialwissenschaftler, Mediziner und Anthropologen neben weiteren wissenschaftlichen Disziplinen die Geschichte des Anstaltsfriedhofs aufzuklären versuchten (Carlichi-Witjes 2016). Die vorliegende Arbeit behandelt einen Teilaspekt dieser interdisziplinären Aufarbeitung, nämlich die forensische Rekonstruktion des Ernährungsstatus der Verstorbenen mittels der Analyse stabiler Kohlenstoff- und Stickstoffisotope aus keratinisiertem Hartgewebe. Das Material aus Hall in Tirol stellt daher die forensische Anwendung der Methodik dar, welche in vorangegangener Grundlagenforschung mit rechtsmedizinischen Probanden etabliert wurde. Der Autor dieser Dissertation war bei der Exhumierung der Verstorbenen beteiligt und unter anderem für die Bergung der keratinisierten

Hartgewebe, sofern noch erhalten, zuständig. Wenn bei den Exhumierungen Haare bzw. Nägel zum Vorschein kamen, wurde die Lage *in situ* dokumentiert und vor allem auf wichtige Informationen für die spätere Auswertung, wie beispielsweise der Abstand der Haare zum Knochen oder die Orientierung der Haarsträhne zur Rekonstruktion der Wuchsrichtung, geachtet (vgl. Abbildung 7). Anschließend wurden die Haare mit einem Faden zusammengebunden, damit die Integrität der Haarsträhne erhalten bleibt und die Haarsträhne bis zur weiteren Bearbeitung vakuumverpackt. Durch diese Maßnahmen wurde sichergestellt, dass die Dekomposition der Proben nicht bis zur weiteren Bearbeitung voranschreitet.



Abbildung 7: Exemplarische Darstellung der Bergung und Präparation keratinisierter Hartgewebe auf der Grabung anhand von Grab 94. Oben links: *in situ* Befund des Grabes, oben rechts: Haare *in situ* mit Blick auf das Hinterhaupt, unten links: Entfernung des Erdreichs und Präparation der Haare, unten rechts: zum Zopf geflochtene Haare, die von gröberem Schmutz befreit sind.

Tabelle 5 zeigt eine Übersicht über die Gräber, bei denen keratinisierte Hartgewebe asserviert werden konnten. Insgesamt war dies bei acht Verstorbenen möglich, darunter ein Fingernagel (Grab 102), einmal sowohl Kopf- als auch Barthaare (Grab 148), einmal Schamhaare (Grab 180) und fünfmal Kopfhaare (Grab 23, 53, 65, 94 und 157). Bei fünf Proben konnte eine genaue zeitliche Zuordnung der Isotopenwerte erfolgen, da die Haarwurzeln noch erhalten waren. Bei zwei Haarsträhnen waren jedoch keine Wurzeln mehr erhalten, sodass durch die Rekonstruktion der Wuchsrichtung zwar ein zeitlicher Verlauf erstellt werden konnte, dieser jedoch nicht in Bezug zum Todeszeitpunkt korreliert werden konnte. Es konnte bei diesen Proben (Grab 23 und 53) also nicht weiter eingegrenzt werden, ob die Isotopenwerte die

Ernährung kurz vor dem Tod oder bereits mehrere Monate vor dem Tod widerspiegeln. Da bei Grab 102 nur der freie Nagel überliefert war, ist auch nur eine sehr vage zeitliche Einordnung möglich. Detailliertere Informationen zu dem Probenmaterial bietet auch Tabelle 10.

Dank der Arbeit von Carlichi-Witjes (2016), die unter anderem durch Abgleich der Individualbefunde der einzelnen Skelette mit den noch überlieferten Patientenakten eine exakte Zuordnung der sterblichen Überreste zu den einzelnen Patienten ermöglichte, konnten ergänzende Informationen zu den Proben aus den Krankenakten gewonnen werden. Die teilweise recht umfangreichen Patientenakten und Pflegeberichte wurden nach Informationen, welche den Ernährungsstatus betreffen bzw. beeinflussen, durchsucht und in Tabelle 5 zusammengefasst.

Tabelle 5: Probenübersicht der bei der Ausgrabung in Hall in Tirol geborgenen keratinisierten Hartgewebe. Es handelt sich bei Grab 102 um einen Fingernagel, bei Grab 148 konnten sowohl Kopf- als auch Barthaare geborgen werden, bei Grab 180 handelt es sich um Schamhaare. Die restlichen Proben sind Kopfhare. Die für den Ernährungsstatus relevanten Individualdaten sind den historischen Pflegeberichten bzw. den Krankenakten entnommen (J: Jahre, M: Monate, T: Tage, m/w: männlich/weiblich).

Grab	Geschlecht	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg] bei Eintritt	BMI [kg/m ²] bei Eintritt	Gewicht [kg] perimortal	BMI [kg/m ²] perimortal	Aufenthalt	Anmerkungen aus historischer Krankenakte
23	w	66	153	52	22,2	44	18,8	2J 9M 12T	Bleichsucht, Marasmus; künstliche Ernährung in den letzten sechs Monaten
53	w	72	146	41	19,2	39	18,3	5J 3M 22T	Bronchopneumonie, Diphtherie Erreger nachgewiesen
65	m	69		62		75		12J 7M 28T	Rheuma, Bronchopneumonie
94	w	73	167	54	19,4			2J 6M 27T	arthritische Beschwerden, Mittelohrentzündung links, ‚Herzmuskelentartung‘
102	m	23						0J 0M 6T	Bronchopneumonie
148	m								Akte fehlt, Kachexie, Blasenerkrankung
157	w	83	155	45	18,7	33	13,7	0J 8M 24T	seniler Marasmus
180	w	34	151	34	14,9	30	13,2	1J 2M 10T	Lungentuberkulose

III.1.4 Haarstandard

Zur Etablierung eines internen Laborstandards und zum Testen verschiedener Wasch- und Aufschlussmethoden wurden größere Mengen Haare benötigt. Das Material für diesen Standard stammt von einem Friseursalon aus Garmisch-Patenkirchen in Bayern. Es wurde Verschnitt von ca. zehn männlichen, erwachsenen Kunden gesammelt. Dieses noch ungewaschene Material wurde anschließend homogenisiert und durchmischt (vgl. Kapitel III.2.1.4), so dass mehrere Gramm Haarpulver für Versuche zur Verfügung stehen.

III.1.5 Überblick Versuchsanordnungen

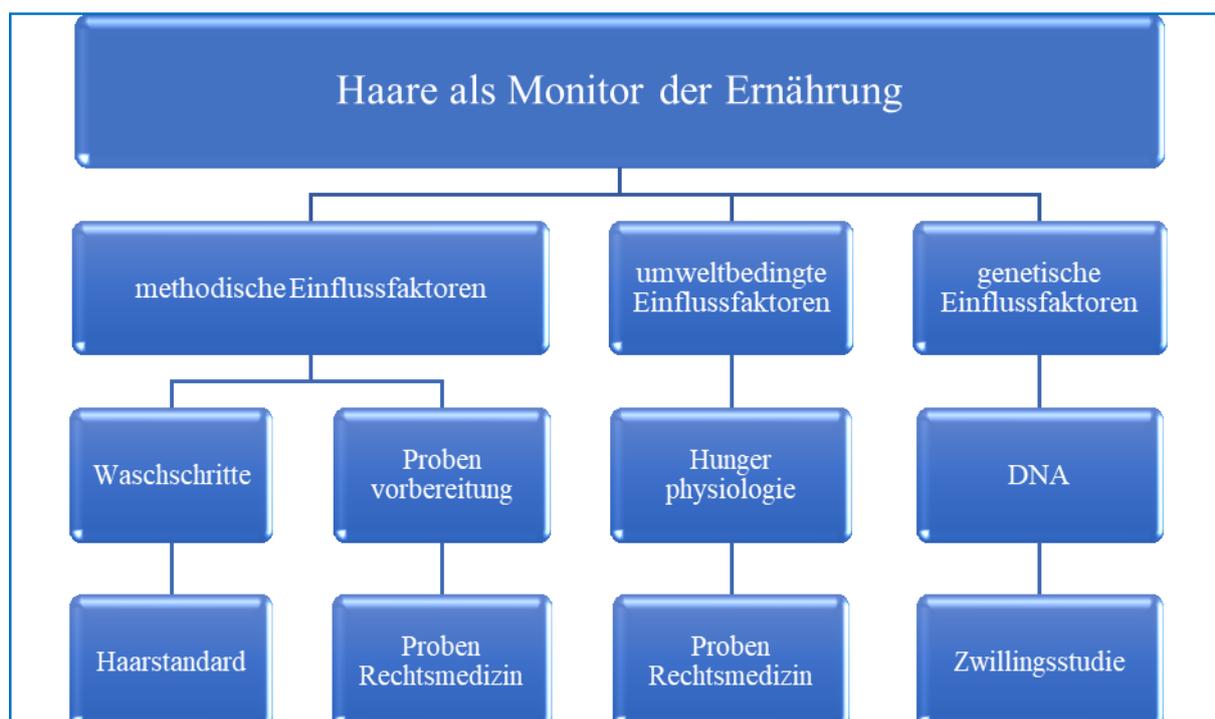


Abbildung 8: Übersicht über die verschiedenen Ansätze zur Beantwortung der Frage nach Veränderungen der Haare bei Unterernährung.

Um die offenen Fragen zu Beginn dieser Dissertation zu klären, wurden verschiedene Versuchsansätze entworfen, welche in Abbildung 8 grafisch dargestellt sind. Je nach Fragestellung eignet sich unterschiedliches Probenmaterial zur Durchführung der Versuche. Zur Evaluation der optimalen Probenvorbereitung wurden z. B. Haare aus einem Friseursalon (interner Haarstandard) verwendet. Die rechtsmedizinischen Probanden wurden sowohl zur Verbesserung der Methode als auch zur Erforschung der Hungerphysiologie verwendet, während mit den Haaren der Zwillingspaare der genetische Einfluss auf die Veränderungen der Isotopenwerte untersucht wurde. Eine konkrete Anwendung der gewonnenen Erkenntnisse aus dieser Grundlagenforschung stellt das Material aus Hall in Tirol dar.

Da gerade beim rechtsmedizinischen Material nicht von allen Probanden alle Gewebe beprobt werden konnten (z. B. wegen Mangel an Haaren), standen nicht immer alle 16 rechtsmedizinischen Probanden für die Versuchsansätze zur Verfügung. Welche Proben bei welchem Versuch zum Einsatz kamen und um welches Material es sich genau handelt, zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6: Übersicht über die beteiligten rechtsmedizinischen Proben an den verschiedenen Versuchsansätzen.

Rechts medizinischer Proband	Versuchsansätze zur					
	methodischen Verbesserung			physiologischen Grundlagenforschung		
	Methoden vergleich	Reproduktions messung	Wachstums phasen	Isotope retrospektiv	ASA retrospektiv	Gewebe vergleich
1	X	X	X	X	X	X
2	X	X	X	X	X	X
3	X	X	X	X	X	X
4	X	X	X	X	X	X
5	X	X	X	X		X
6	X	X	X	X		X
7	X	X	X	X		X
8	X	X	X	X		X
9	X	X	X	X	X	
10	X	X	X	X	X	
11			X	X	X	
12			X	X	X	X
13		X	X	X	X	X
14		X	X	X	X	
15		X	X	X		X
16			X	X		X
Anzahl Proben	10	13	16	16	10	12

III.1.5.1 Methodische Verbesserungen

Eines der Probleme der Vorgängerstudie zur seriellen Analyse stabiler Isotope von Haarsträhnen ist die mangelnde Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (vgl. Neuberger (2013)). Ein Hauptgrund hierfür ist, dass jedes einzelne Haar als eigenes Organ anzusehen ist, welches weitgehend unabhängig von den benachbarten Haaren wächst und Nährstoffe aufnimmt (vgl. Kapitel II.6.1.2). Dies kann gerade bei geringen Probenmengen, wie es bei forensischen Fragestellungen oft der Fall ist, zu unterschiedlichen Messwerten führen.

Während sich beim Gesunden ein relativ stabiler Anteil von ca. 85 % der Haare im Wachstum befindet, kann sich dieser Anteil bei Krankheiten verändern (Harkey 1993). Da Haare bei Unterernährung ihr Wachstum einstellen, verringert sich der Anagenhaar-Anteil, wohingegen die Haare in der Telogenphase im Trichogramm zunehmen (Bradfield *et al.* 1969). Bradfield (1972) schlägt daher das Trichogramm, also die Verteilung der Wachstumsphasen einer

Haarsträhne, als schnelle und einfache Methode zur Diagnose einer Unterernährung vor. Um den Anteil der wachsenden Haare bei den rechtsmedizinischen Probanden zu ermitteln, wurde daher von allen 16 Probanden ein Trichogramm erstellt (vgl. die Spalte ‚Wachstumsphasen‘ in Tabelle 6).

Die mangelnde Reproduzierbarkeit und stark schwankende Werte bei verschiedenen Messreihen führt Neuberger (2013) auf den schwankenden Anteil von Anagenhaaren in einer Strähne zurück. Wenn Haare das Wachstum einstellen, aber noch nicht ausfallen, unterscheiden sich die Isotopenwerte der einzelnen Haare in einem Abschnitt, da sie die Nahrungsaufnahme zu verschiedenen Zeitpunkten repräsentieren. Um die zeitliche Konkordanz der inkorporierten Nahrung zwischen den einzelnen Haaren wiederherzustellen, wurden nur Anagenhaare weiter analysiert und die Haare untereinander anhand ihrer Wurzel justiert (vgl. Kapitel III.2.1.1.1). Eine vergleichbare Herangehensweise wurde auch von Williams *et al.* (2011) beschrieben. Durch die Analyse von zwei unabhängigen Haarsträhnen nach der neuen Methode, bei der nur Anagenhaare weiter analysiert werden, kann der Grad der Übereinstimmung der Messwerte dieser beiden Strähnen ermittelt werden und damit die Überlegenheit gegenüber der herkömmlichen Methode abgeschätzt werden (vgl. Kapitel IV.1.3.2). Wie Tabelle 6 zu entnehmen ist, konnten für diese **„Reproduktionsmessungen“** 13 Proben herangezogen werden, bei drei Proben (rHP 11, 12 und 16) reichte das Material zur Analyse einer weiteren Anagenhaarsträhne nicht aus.

Beim **„Methodenvergleich“** wurden bei den rechtsmedizinischen Proben, bei denen sich der Isotopenwert im Verlauf der Zeit änderte, zudem unsortierte Haarsträhnen analysiert (beinhalten auch nicht wachsende Haare). So kann die Abweichung des Isotopenwertes und dessen Verlauf der neuen Methode (nur Anagenhaare) gegenübergestellt werden. Wie in Tabelle 6 aufgeführt, wurde dieser Versuchsansatz bei den Proben rHP 1-10 durchgeführt. Bei den Proben 13 und 14 änderte sich der Isotopenwert im Verlauf nicht (vgl. Kapitel V.4.1), sodass ein Unterschied zwischen den Methoden nicht detektierbar ist, da die Wachstumsphasen, aufgrund der fehlenden zeitlichen Veränderung des Isotopenwerts, irrelevant sind. Diese Proben wurden daher beim „Methodenvergleich“ ausgeschlossen, um die Ergebnisse nicht zu verfälschen. Bei den Proben 11, 12, 15 und 16 war nicht mehr genügend Material zur Durchführung des Versuchs vorhanden.

Mithilfe der ungewaschenen Friseurhaare wurden verschiedene Methoden der Probenaufbereitung (Waschschritte und Proteinaufschluss) getestet, um die geeignetste zu evaluieren (vgl. Kapitel III.2.1.4).

III.1.5.2 Physiologische Grundlagenforschung

Bezüglich der Rekonstruktion des Ernährungsstatus im zeitlichen Verlauf existieren noch offene Fragen, gerade im Bereich des Hungerstoffwechsels und des Haarwachstums, deren Klärung für eine standardisierte Anwendung der Methodik in der Forensik von Bedeutung ist.

Die Kombination von Isotopendaten mit der Aminosäurezusammensetzung des Proteins rückt stärker in den Fokus bei der Ernährungsrekonstruktion (vgl. Kapitel II.4.3). Auch Neuberger (2013) empfiehlt, Aminosäureanalysen bei Fällen von Unterernährung als zusätzliche Proxy-Variable zu erforschen. Mithilfe der rechtsmedizinischen Proben soll daher der Einfluss der Aminosäurezusammensetzung auf die veränderten Isotopenwerte untersucht werden. Während von allen rechtsmedizinischen Proben mindestens eine Haarsträhne zur Analyse der stabilen Isotope verwendet werden konnte, war dies aufgrund von Materialmangel bei den Aminosäureanalysen nur bei zehn von 16 Proben möglich (vgl. Tabelle 6).

Die Aminosäure- und Isotopenanalyse verschiedener Gewebe (Haare, Muskel, Knochen, Fett) soll neue Erkenntnisse der Hungerphysiologie bringen. Da bei fehlender Nahrungsaufnahme körpereigenes Gewebe recycelt wird (vgl. Kapitel II.4), kann dessen Analyse helfen, die Umbauvorgänge im Körper nachzuvollziehen. Bei zwölf der 16 rechtsmedizinischen Proben fand neben den Haaren auch eine Beprobung von weiterem Gewebe statt (vgl. Tabelle 6).

III.1.5.3 Genetische Einflüsse

Ob die Isotopenwerte neben der Ernährung auch genetisch bedingt sind und falls dies zutrifft, mit welcher Schwankungsbreite zu rechnen ist, soll mithilfe einer **Zwillingsstudie** geklärt werden. Unter der Annahme, dass die jeweiligen Zwillingspaare eine ähnliche Ernährung haben (vgl. Kapitel III.1.2), kann durch Vergleich der Isotopenwerte von mono- und dizygoten Zwillingspaaren der genetische Einfluss abgeschätzt werden. Sofern die Isotopenwerte vom Haarkeratin bei den monozygoten Paaren deutlich näher beieinanderliegen als bei den dizygoten Paaren, wäre dies ein Hinweis auf einen genetischen Einfluss. Durch den Vergleich der durchschnittlichen Abweichung der Isotopenwerte bei den monozygoten- mit den dizygoten Paaren könnte zudem die Stärke dieses Einflusses abgeschätzt werden und damit auch, ab welcher Differenz von Isotopenwerten nicht mehr von einer interindividuellen Schwankung ausgegangen werden muss, sondern von einer veränderten Ernährung.

III.1.5.4 Anwendung an einem historischen/forensischen Fall

Die Erkenntnisse der Grundlagenforschung aus den oben beschriebenen Versuchen sollen am konkreten Fall angewendet werden. Dazu sollen zum einen die rechtsmedizinischen Proben

individuell befundet werden und mit den anamnestischen Daten in Bezug gebracht werden. Zum anderen werden die Proben aus Hall in Tirol untersucht, um festzustellen, ob es sich um die Haarproben von Verstorbenen handelt, welche vor ihrem Tod an einer Unterernährung litten. Dies könnte in der Zusammenschau mit anderen Erkenntnissen aus der interdisziplinären Arbeitsgruppe „Zur Bergung und Untersuchung des Anstaltsfriedhofes“ ein Indiz zur Klärung der Frage liefern, ob es sich um Opfer der ‚wilden Euthanasie‘ gehandelt haben könnte. Bei diesen Proben waren meist nur wenige Haare überliefert, so dass lediglich die Analyse der stabilen Isotope erfolgen konnte und keine Aminosäureanalyse vorgenommen wurde.

III.2 Methoden

Im Rahmen dieser Arbeit wurden vor allem Isotopenanalysen und Aminosäureanalysen (ASA) durchgeführt. Die verschiedenen Gewebeproben müssen dafür jeweils unterschiedlich aufbereitet werden, um sie der Messung zuführen zu können.

III.2.1 Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung ist für die Isotopenanalysen und die Aminosäureanalysen identisch. Bei der Aminosäureanalyse müssen die Proben jedoch vor der Messung noch hydrolysiert werden, um das Protein in seine einzelnen Aminosäuren aufzuspalten.

III.2.1.1 Rechtsmedizinische Proben

Wie bereits unter Kapitel III.1.1 beschrieben, wurden die Leichen von der Rechtsmedizin München beprobt und die verschiedenen Gewebeproben für weitere Analysen zur Verfügung gestellt.

Die Kopfhare, welche sich noch in der Kopfhaut befinden, werden zuerst von makroskopischen Verunreinigungen mithilfe von destilliertem Wasser gereinigt und anschließend, wie bei Van Scott *et al.* (1957) bzw. Maguire Jr. und Kligman (1964) empfohlen, mittels eines mit Silikonknoten versehenen Nadelhalters nahe der Kopfhaut eingeklemmt und ruckartig senkrecht zur Kopfhaut epiliiert. Dies minimiert laut Maguire Jr. und Kligman (1964) das Auftreten von artifiziellen dystrophischen Anagenhaaren, bei denen Verwechslungsgefahr mit pathologisch veränderten Haarwurzeln besteht.



Abbildung 9: Links: Werkzeug zur Präparation (von links: Nadelhalter mit Silikonknoten, Skalpell, chirurgische Pinzette); rechts: exemplarischer Skalp mit Haaren.

Die sonstigen Gewebe (Fett, Muskel, Knochen) müssen zuerst aus dem Verbund separiert werden. Dazu wird das subkutane Fettgewebe, die *Mm. intercostales* und die Rippe

makroskopisch mit einem Skalpell und chirurgischer Pinzette präpariert, separiert und der unten beschriebenen weiteren Bearbeitung zugeführt.

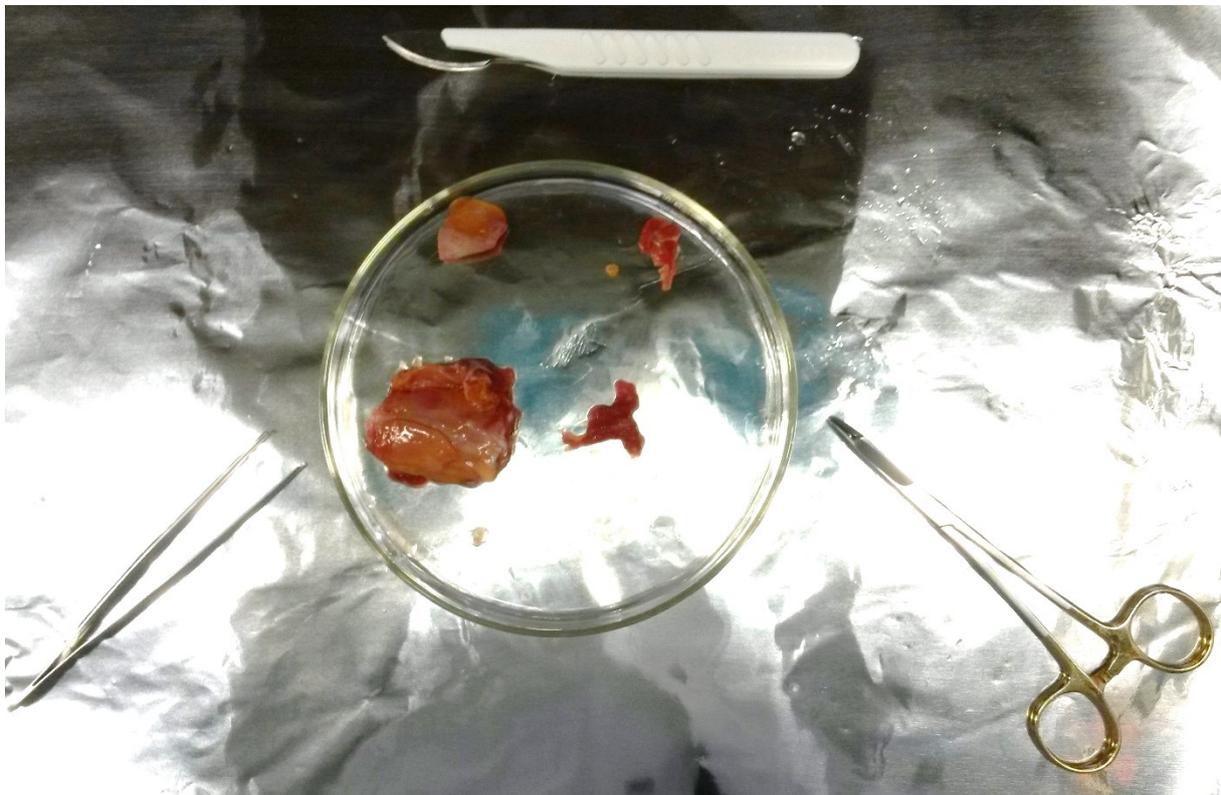


Abbildung 10: Mithilfe einer chirurgischen Pinzette, Skalpell und Nadelhalter wird von der parasternalen Gewebeprobe subkutanes Fettgewebe, *Mm. intercostales* und Knochen für die weitere Bearbeitung präpariert und separiert.

III.2.1.1.1 Haare

Die epiliierten Haare werden mit einem Faden zusammengebunden und für 15 Minuten im Ultraschallbad mit destilliertem Wasser gewaschen, um gröbere Verunreinigungen, wie beispielsweise anhaftende Hautschuppen, zu entfernen.

Sortieren

Die gesäuberten Haarsträhnen werden anschließend unter dem Mikroskop (hier: Axioskop 2 plus (Fa. Zeiss, Jena)) untersucht. Dabei wird jedes Haar nach seiner Wurzelmorphologie sowie auf Veränderungen am Haarschaft hin untersucht und zur Erstellung eines Trichogramms dokumentiert. Abgebrochene Haare werden aussortiert und dokumentiert, da sie zur weiteren Analyse ungeeignet sind, aber ein Indikator für den Erfolg der Epilation bzw. pathologisch brüchiges Haar sein können (Braun-Falco 1966; Maguire Jr. & Kligman 1964; Raab 2012a). Die ersten 50 Haare werden als „unsortierte Strähne“ weiterbearbeitet (Versuch „Methodenvergleich“). Für die restlichen Versuche („Reproduktionsmessungen“ und „Aminosäureanalyse“) werden nur Haare mit Anagenwurzel zur weiteren Bearbeitung

separiert. Insgesamt werden also vier verschiedene Haarsträhnen mit jeweils 50 Haaren aus jedem rechtsmedizinischen Skalp untersucht, nämlich eine unsortierte (U) für den „Methodenvergleich“, zwei Anagenhaarsträhnen (A1 und A2) für „Reproduktionsmessungen“ und eine Anagenhaarsträhne für die Aminosäureanalyse (A3). Eine Visualisierung der Methode zeigt Abbildung 11.

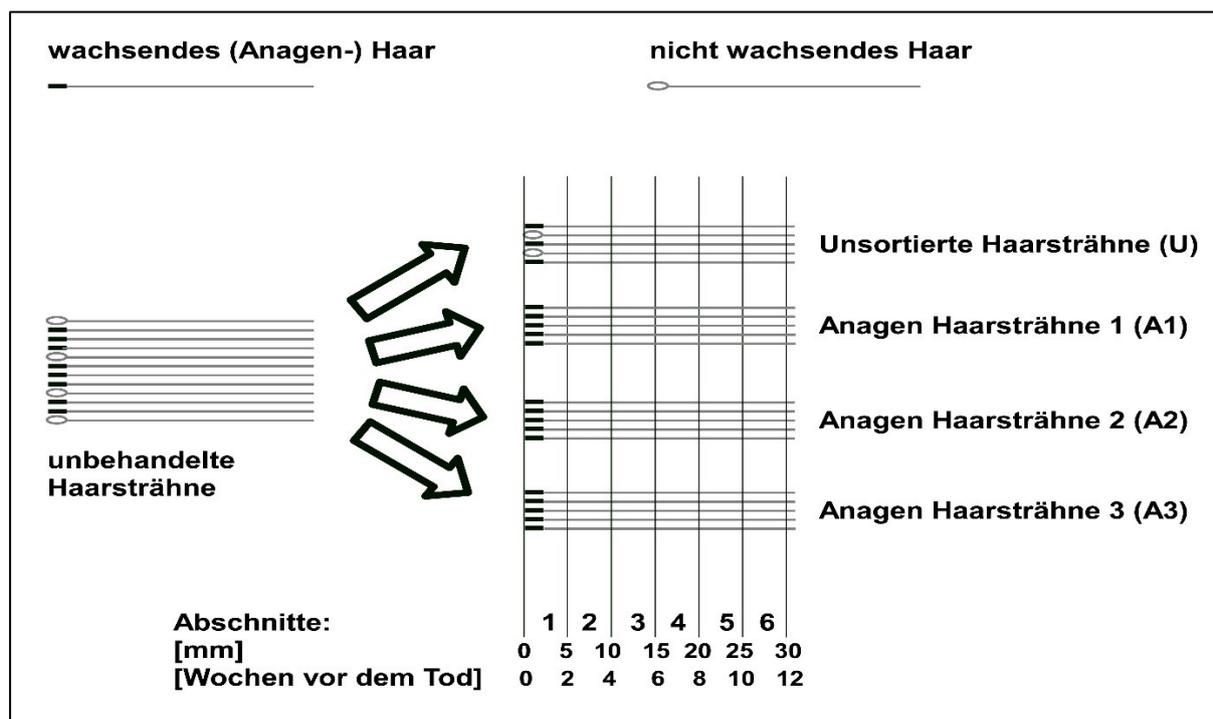


Abbildung 11: Vorbereitung der Haarsträhne für die weiteren Analysen.

Waschschrift

Die sortierten Strähnen werden anschließend nach einem modifizierten Protokoll von O'Connell und Hedges (1999a) gereinigt. Dabei wird die Haarsträhne mit einem Faden zusammengebunden und in einem Becherglas mit destilliertem Wasser für 15 Minuten im Ultraschallbad von größeren Verunreinigungen befreit. Anschließend erfolgt der Waschschrift, bei dem die Haarsträhne im Becherglas für 90 min mit einer Chloroform-Methanol-Lösung (Volumenverhältnis 1:2) im Abzug auf einem Rotationsschüttler (Shaker DOS-10L, neoLab® bei 150 rpm) gereinigt wird. Dabei sollten die Haare stets mit dem Lösungsmittel bedeckt sein. Nach 45 Minuten wird die Waschlösung erneuert. Nach dem Chloroform-Methanol-Waschschrift, welcher vor allem fettlösliche Verunreinigungen in Form von körpereigenem Talg und anderen Fetten aus der Umwelt entfernen soll (Mekota *et al.* 2009; Roy *et al.* 2005), wird die Strähne nochmals für 15 Minuten mit destilliertem Wasser im Ultraschallbad gereinigt

und anschließend für 45 Minuten im Erlenmeyer-Kolben mit Seitenrohr bei kontinuierlichen Durchfluss mit destilliertem Wasser gewaschen, um Lösungsmittelrückstände zu entfernen.

Justieren

Für die spätere Auswertung ist es von entscheidender Bedeutung, dass die einzelnen Haare an ihrer Wurzel justiert werden, da nur so sichergestellt wird, dass die analysierten Haarsträhnen-Abschnitte die zur gleichen Zeit inkorporierte Nahrung widerspiegeln. Dafür wird die Strähne in eine mit Aceton und Methanol gereinigte, ca. 1,5 cm breite Aluminiumfolie eingeschlagen (Mekota *et al.* 2006). Der Bereich der Haarwurzeln wird jedoch noch freigelassen, um diese mithilfe einer Pinzette auf eine Schnittkante zu justieren (vgl. Abbildung 12). Wenn die Wurzeln justiert sind, wird die Haarsträhne komplett in die Aluminiumfolie eingeschlagen und die Folie von außen mit einem Textmarker ab der Haarwurzelkante im Abstand von 5 mm markiert. Mit einer Schere werden die ersten sechs Abschnitte, also 3 cm ab Wurzelkante,



Abbildung 12: Haarsträhne mit Anagen-Haarwurzeln, welche ca. 100 µm genau auf eine Kante justiert wurden.

abgeschnitten. Das Einschlagen in Aluminiumfolie hat zudem den Vorteil, dass gewelltes Haar in eine gerade Position gebracht werden kann. Wie in Abbildung 11 zu sehen, wird der erste 5 mm Abschnitt mit Haarwurzel als Abschnitt 1 bezeichnet und die Abschnitte fortlaufend nummeriert bis Abschnitt 6.

Jeder Abschnitt repräsentiert unter Annahme einer durchschnittlichen Wachstumsgeschwindigkeit von 1 cm/Monat (Harkey 1993) die inkorporierte Nahrung von ca. zwei Wochen. Auf die Bestimmung kürzerer Abschnitte, z. B. 2,5 mm für eine Woche, wie unter anderem bei Neuberger (2013), wurde verzichtet, da die Haarwurzeln nie exakt auf eine Kante justiert werden können, sondern meistens Schwankungen von 250 µm unvermeidbar sind. Dies würde bei kürzeren Abschnitten, zu Lasten der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, stärker ins Gewicht fallen.

Retrospektiver Verlauf

Die zeitlichen Angaben („Wochen vor Tod“) beziehen sich auf ein durchschnittliches Haar- bzw. Nagelwachstum. Sofern nichts anderes vermerkt ist, basieren die Zeitangaben in der vorliegenden Arbeit auf der Annahme folgender Wachstumsgeschwindigkeiten, die innerhalb der Variationsspannen liegen, wie sie bei Madea (2004) und Raab (2012b) dokumentiert sind:

- Kopfhaare: 2,5 mm pro Woche
- Schamhaare: 2,5 mm pro Woche
- Barthaare: 2 mm pro Woche
- Fingernagel: 0,7 mm pro Woche

Da das Wachstum der Haare und Nägel aber sowohl intra- als auch interindividuell großen Variationsbreiten unterworfen ist, sind die Zeitangaben eher als Orientierungshilfe (kurz vor dem Tod, länger zurückliegend) anzusehen. Wenn z. B. der Abschnitt 1 0-5 mm ab der Haarwurzel analysiert wurde, spiegelt die δ -Notation ca. die letzten beiden Wochen vor dem Tod wider (vgl. Abbildung 11).

III.2.1.1.2 Fett

Die frei präparierte Fettprobe wird für 15 Minuten im Ultraschallbad mit destilliertem Wasser von hydrophilen Substanzen und makroskopischen Verunreinigungen (z. B. Blut) gereinigt. Die Fettprobe wird anschließend in ein Schnappdeckelglas überführt und im Lyophilisator (Alpha 1-4LD, Christ, mit IMVAC Vakuum Pumpe) für 4 Tage bei -50 °C gefriergetrocknet. Die getrocknete und auf -50 °C abgekühlte Probe wird unmittelbar im Anschluss in der Kugelschwingmühle (Retsch, Typ MM200) für 30 Sekunden bei einer Frequenz von 30 Hz homogenisiert und bis zur weiteren Verwendung in einem Schnappdeckelglas aufbewahrt.

III.2.1.1.3 Muskel

Die Muskelprobe wird zunächst für 15 Minuten im Becherglas mit destilliertem Wasser im Ultraschallbad gewaschen, um anhaftende hydrophile Substanzen und makroskopische Verunreinigungen, wie z. B. Blut, zu entfernen. Anschließend wird die Muskelprobe in einem Filterbeutel (F57 filter bags, ankom technology, USA) mittels Soxhlet-Extraktion in einer Chloroform-Methanol-Lösung (Volumenverhältnis 2:1) für 20 Stunden entfettet. Die Entfettung von Muskelproben mittels Soxhlet-Extraktion wird unter anderem auch bei Hobson *et al.* (1993) beschrieben. Anschließend werden Lösungsmittelrückstände im



Abbildung 13: Soxhlet-Apparatur zum Entfetten der Proben.

Erlenmeyerkolben mit Seitenrohr, unter kontinuierlichem Fluss mit destilliertem Wasser, entfernt. Die Muskelprobe wird nun im Lyophilisator (Alpha 1-4LD, Christ, mit IMVAC Vakuumpumpe) für vier Tage bei -50 °C gefriergetrocknet und unmittelbar danach in einer Kugelschwingmühle (hier: Retsch, Typ MM200) für 90 Sekunden mit einer Frequenz von 25 Hz gemahlen.

Hierbei ist das Muskelgewebe bereits pulverisiert und homogenisiert, die dem Muskel anhaftenden Sehnen jedoch aufgrund unterschiedlicher Elastizitätseigenschaften noch nicht. Durch anschließendes Absondern mithilfe eines Metallsiebs mit 0,5 mm Maschenweite, können Muskelpulver und Sehnen voneinander separiert werden.

Der pulverisierte und getrocknete Muskel wird anschließend mit 1 mL 1 M HCl pro 50 mg Muskel für 20 Minuten in einem 10 mL Zentrifugenröhrchen (Nalgene Oak-Ridge, Thermo-Fischer) mit leicht geöffnetem Deckel unter leichtem Schütteln (DOS-10L, neoLab) inkubiert, um evtl. anhaftende Karbonate aus Blut und Extrazellulärraum auszuwaschen (Carabel *et al.* 2006). Die

Behandlung mit starken Säuren wird insbesondere bei hohen Karbonatanteilen auch von Søreide *et al.* (2006) empfohlen.

Anschließend wird die Muskelprobe wieder mit destilliertem Wasser auf einen neutralen pH-Wert gewaschen, indem nach Zentrifugation (3000 rpm mit 2K15, Sigma) der Säureüberstand abgesaugt und verworfen wird. Das Teflonröhrchen wird anschließend wieder mit destilliertem Wasser befüllt, geschüttelt, abzentrifugiert und der Überstand erneut verworfen. Dieser Schritt wird so oft wiederholt, bis der pH-Wert des destillierten Wassers erreicht wird. Anschließend wird die Muskelprobe, welche nun eine gallertige Konsistenz hat, in ein Schnappdeckelglas überführt und im Lyophilisator (Alpha 1-4LD, Christ, mit IMVAC Vakuumpumpe) für vier Tage bei -50 °C gefriergetrocknet. Die Probe kann nun bis zur weiteren Verwendung im Schnappdeckelglas aufbewahrt werden.

III.2.1.1.4 Knochen

Der präparierte Knochen wird zunächst von allen anhaftenden Weichteilen und der Spongiosa befreit, sodass nur Kompakta übrig bleibt. Der Knochen wird anschließend in einer Chloroform-Methanol-Lösung (Volumenverhältnis 2:1) für 20 Stunden im Becherglas auf dem Schüttler (Shaker DOS-10L, neoLab bei 175 rpm) unter dem Abzug inkubiert, um gröbere Fettbestandteile zu lösen. Nun können evtl. anhaftende Weichteile und Periost mit einem Skalpell und chirurgischer Pinzette leichter entfernt werden. Die Knochenprobe wird in einen Filterbeutel (F57 filter bags, ankom technology) gegeben und mittels Soxhlet Extraktion, wie bei Doppler (2008) beschrieben, entfettet. Dabei wird die Knochenprobe mit Diethylether für vier Tage behandelt, wobei das Lösungsmittel nach 48 Stunden erneuert wird. Um das Lösungsmittel und sonstige Verunreinigungen zu entfernen, wird die Knochenprobe anschließend mit destilliertem Wasser im Ultraschallbad gewaschen und bei Raumtemperatur getrocknet. Nun wird die Probe mit einer Kugelschwingmühle (Retsch, Typ MM200) für 90 Sekunden mit einer Frequenz von 25 Hz pulverisiert.

Bei der gereinigten, entfetteten und pulverisierten Knochenprobe erfolgt nun die Kollagenextraktion modifiziert nach Longin (1971). Hierzu wird 250 mg Knochenpulver in 5 mL 1 M HCl für 20 Minuten in einem 10 mL Zentrifugenröhrchen (Nalgene Oak-Ridge, Thermo-Fischer), mit leicht geöffnetem Deckel und unter leichtem Schütteln (150 rpm auf DOS-10L, neoLab), demineralisiert. Anschließend wird die Knochenprobe, wie dies auch für die Muskelprobe unter Punkt III.2.1.1.3 beschrieben ist, mit destilliertem Wasser gewaschen, bis der pH-Wert des Wassers erreicht ist.

Das abzentrifugierte Pellet (5 min bei 3000 rpm mit 2K15, Sigma) wird nun für 20 Stunden in 5 mL 0,125 M NaOH auf dem Schüttler (150 rpm) inkubiert, um saure Verbindungen zu entfernen. Nach erneuten Waschschritten mit destilliertem Wasser und Abzentrifugation (5 min bei 3000 rpm mit 2K15, Sigma) wird das Pellet mit 5 mL 0,001 M HCl überschichtet und bei geschlossenem Deckel bei 90°C für 17 Stunden im Wasserbad inkubiert, um das Kollagen zu gelatinisieren (Ambrose 1993; Ambrose & Norr 1993). Das Kollagen wird anschließend von unlöslichen Feststoffen getrennt, indem es durch Glasfilternutschen (50 ml, Por. 3, Schott Duran) in ein Rollrandglas filtriert wird. Anschließend erfolgt die Trocknung des Kollagens für vier Tage im Lyophilisator (Alpha 1-4LD, Christ, mit IMVAC Vakuum Pumpe) bei -50 °C.



Abbildung 14: Fertig aufbereitete Proben in Rollrandgläsern (obere Reihe Fettgewebe, mittlere Reihe Muskelgewebe, untere Reihe Knochen-Kollagen).

III.2.1.2 Haare von Zwillingspaaren

Dieser Teil der Arbeit wurde von Lisa Benda im Rahmen ihrer Masterarbeit (Benda 2015) durchgeführt. Zunächst werden die Haare vorbereitet, wie unter ‚Waschschritt‘ auf Seite 50 beschrieben. Da die Haare der Zwillingspaare nicht ausgerissen, sondern abgeschnitten wurden (vgl. Kapitel III.1.2) und die Fragestellung nicht auf den zeitlichen Verlauf der Ernährung, sondern auf den genetischen Einfluss auf die Isotopenwerte abzielt, ist ein Justieren der Haarsträhne nicht nötig. Um einen durchschnittlichen Isotopenwert des Haares zu bestimmen, wird die Haarsträhne homogenisiert. Dazu wird eine bei Thompson *et al.* (2010) beschriebene und von Benda (2015) modifizierte Methode angewandt. Die Haare werden zusammen mit 0,5 mL destilliertem Wasser in den Mahlbecher der Kugelschwingmühle (Typ MM200, Retsch) gegeben und für 90 Sekunden bei 30 Hz gemahlen. Durch die Zugabe des Wassers wird das Keratin vor Hitze geschützt und zudem eine maximale Ausbeute erzielt (Simsek 2014). Das Homogenisat wird anschließend auf Wägebepapier (MN 226, Macherey-Nagel) aufgetragen und getrocknet.

III.2.1.3 Haare aus archäologischen Quellen

Die Vorbereitung der Haare erfolgt wie unter III.2.1.1.1 beschrieben. Bei den Proben aus Hall in Tirol waren oft nur wenige Haare überliefert, weshalb lediglich Isotopenanalysen und keine Aminosäureanalysen durchgeführt werden konnten. Aufgrund der forensischen Fragestellung wurde versucht, die höchste zeitliche Auflösung durch möglichst kleine Abschnitte zu gewährleisten. War ein wöchentlicher Abschnitt (ca. 2,5 mm der Haarsträhne) wegen zu geringer Einwaage (ca. 0,5 mg Haar wird für eine Analyse benötigt) nicht möglich, wurde der Abschnitt auf eine ausreichende Länge vergrößert, bis genügend Haarkeratin für die massenspektrometrische Analyse zur Verfügung stand.

Bestimmung der Wuchsrichtung

Bei Probe 23 und 53 waren keine Haarwurzeln überliefert. Um die richtige Orientierung der Haarsträhnen zum Schädel zu bestimmen, wurde die Wuchsrichtung mit der Abdrucktechnik, beschrieben bei Trüb (2003), untersucht. Dazu wird ein Haar aus der Strähne auf eine Kunststoffpetrischale gelegt und mit einigen Tropfen Aceton überschichtet. Dadurch sinkt das Haar in den Kunststoff und die Kutikula hinterlässt einen Abdruck. Nach Entfernung des Haares kann die Petrischale lichtmikroskopisch untersucht werden. Taucht man das Haar vorher in 0,125 M NaOH-Lösung spreizt sich die Kutikularschicht ab und die freien Ränder der Schuppen zeigen Richtung Haarspitze (Jany *et al.* 2015), was die Bestimmung der Wuchsrichtung erleichtert (Neuberger *et al.* 2014).

Fingernagel

Der Fingernagel wurde demselben Waschschrift wie die Haare unterzogen (vgl. ‚Waschschrift‘ auf Seite 50). Er wurde jedoch jeweils für 10 Minuten im Ultraschallbad in einem Becherglas mit Aceton und im Anschluss mit destilliertem Wasser überschichtet, um oberflächliche Kontaminationen aus dem Erdreich zu entfernen. Die Behandlung von Nagelproben mit Aceton ist auch bei Reitsema (2015) beschrieben.

III.2.1.4 Herstellung eines Haarstandards

Die unter III.1.4 beschriebenen Haare wurden bei einer Frequenz von 30 Hz mit der Kugelschwingmühle (Typ MM200, Retsch) für 10 Minuten pulverisiert. Anschließend wurde das Haarpulver mit einem Sieb (Maschenweite 250 µm) von größeren Rückständen befreit. Das so gewonnene Haarpulver wurde abschließend für zwei Tage in einem Erlenmeyerkolben mit einem Magnetrührer homogenisiert. Das Haarpulver diente als interner Laborstandard und zum

Testen der optimalen Waschlösung und Waschzeit sowie verschiedener Hydrolyseverfahren zur Aminosäureanalyse (III.2.3.1).

Test des Waschschriffs

Da in der Literatur verschiedene Angaben zum Volumenverhältnis der Chloroform-Methanol-Lösung und zur Dauer des Waschvorganges gemacht werden (vgl. Kapitel II.2), wurden verschiedene Einwirkzeiten der Waschlösungen getestet.

Zuerst wurden jeweils 10 mg des Haarstandards in elf verschiedenen Filterbeuteln (F57 filter bags, ankom technology, USA) für 15 Minuten mit destilliertem Wasser im Ultraschallbad gereinigt. Ein Beutel wurde ohne weitere Behandlung der Isotopenanalyse zugeführt.

Fünf Beutel wurden in einem Becherglas mit einer Chloroform-Methanol-Lösung (Volumenverhältnis 1:2) im Abzug auf dem auf einem Rotationsschüttler (Shaker DOS-10L, neoLab® bei 150 rpm) gereinigt, wobei alle 30 min ein Filterbeutel entnommen wurde, sodass folgende Einwirkzeiten der Waschlösung getestet wurden: 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten. Da Chloroform leicht flüchtig ist, wurde alle 45 Minuten die Lösung erneuert, um sicherzustellen, dass immer genügend Reaktionslösung zur Verfügung steht. Anschließend wurden die Proben für 15 Minuten im Becherglas im Ultraschallbad und für 45 Minuten im Erlenmeyer-Kolben mit Seitenrohr bei kontinuierlichem Durchfluss mit destilliertem Wasser gespült. Nach der Trocknung des Pulvers bei Raumtemperatur im Abzug wurde der Haarstandard der Isotopenanalyse zugeführt.

Bei weiteren fünf Beuteln wurde die gleiche Prozedur durchgeführt, mit der Änderung, dass als Waschlösung die Chloroform-Methanol-Lösung im Volumenverhältnis 2:1 verwendet wurde, also eine höhere Konzentration des Lösungsmittels Chloroform.

III.2.2 Analyse der stabilen Isotope

Zur Analyse der stabilen Isotope von Stickstoff und Kohlenstoff werden mithilfe einer Feinwaage (OHAUS®, Analytical Plus) 0,5 mg des getrockneten Probenmaterials (Haare, Nagel, Fett, Muskel, Knochenkollagen) in Zinnkapseln (5x12 mm, I. V. A. Analysentechnik e. K., Deutschland) eingewogen. Nicht immer konnte die für die Analyse optimale Masse von 0,5 mg erreicht werden. Die Messung kann prinzipiell auch mit geringerer Einwaage durchgeführt werden, falls nicht genügend Material vorhanden ist, jedoch wird dadurch der Messfehler größer.

Die massenspektrometrische Messung erfolgte am GeoZentrum Nordbayern an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg mithilfe eines Elementaranalysators (Carlo-Erba 1110), der mit einem Massenspektrometer (ThermoFinnigan Delta V Plus) gekoppelt ist. Die Probe wird dabei in einem Reaktor durch Zugabe von Sauerstoff bei hohen Temperaturen verbrannt und im Gasstrom in einen Reduktionsofen geleitet, der zum einen Stickoxide zu N₂ reduziert und zum anderen CO₂ und N₂ chromatographisch auftrennt (Neuberger 2013). Im Massenspektrometer werden die Gase ionisiert und im Vakuum durch ein elektromagnetisches Feld nach ihrer spezifischen Ladung aufgetrennt. Am nachgeschalteten Detektor werden die aufgetrennten Ionenstrahlen in ein elektrisches Signal umgewandelt und daraus die Menge der jeweiligen stabilen Isotope errechnet (Hoefs 2009).

Das Verhältnis von schwerem zu leichtem Isotop, bezogen auf einen Standard, wird in der δ -Notation angegeben, welche sich nach folgender Formel berechnet (Grupe *et al.* 2015):

$$\delta X [\text{‰}] = \left(\frac{R_{\text{Probe}}}{R_{\text{Standard}}} - 1 \right) \times 1000$$

δX [‰] steht für die Delta-Notation der analysierten Isotope von Kohlenstoff bzw. Stickstoff ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) in Promille und R für das Verhältnis von schwerem zu leichtem Isotop ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ bzw. $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$). Als Standard für das Kohlenstoff-Isotopen-Verhältnis wird der VPDB-Standard (Vienna PeeDee Belemnite) verwendet ($R_{\text{Standard}}=0,011180$) und für das Stickstoff-Isotopen-Verhältnis der AIR-Standard ($R_{\text{Standard}}=0,0036765$) (Fry 2006). Die Messungengenauigkeit des Massenspektrometers wird vom Isotopenlabor mithilfe der Standardabweichung mitgemessener interner Laborstandards ermittelt. Sie war bei allen Messungen $\leq 0,1$ ‰ und wird im Ergebnisteil, wenn nicht anders angegeben, als Fehlerindikator abgebildet.

III.2.3 Aminosäureanalysen

Bevor Menge und Anteil der einzelnen Aminosäuren im Protein analysiert werden können, müssen die vorbereiteten Haar-, Knochen- und Muskelproben (wie unter III.2.1 beschrieben) noch in ihre Aminosäuren zerlegt werden. Dabei gibt es verschiedene Methoden die Peptidbindungen zu spalten, welche jeweils Vor- und Nachteile haben (Lösche 2000). In dieser Studie übernahm Krippner (2015) im Rahmen ihrer Masterarbeit einen Teil der Aminosäureanalysen der rechtsmedizinischen Probanden, evaluierte die geeignetste Hydrolysemethode für Haarkeratin und etablierte einen internen Laborstandard.

III.2.3.1 Hydrolyse

Um die geeignetste Hydrolysemethode für Haarkeratin zu finden, wurden die gängigsten Methoden miteinander verglichen. Für alle Hydrolysemethoden wird zunächst 1 mg Probe (Haar, Muskel, Knochenkollagen) in ein Probengefäß (Gewindefläschchen aus Borosilikatglas 2 mL, Roth) mithilfe einer Feinwaage (OHAUS®, Analytical *Plus*) eingewogen und mit einem Deckel mit Silikon/PTFE Septum verschlossen. Die Hydrolyse wurde stets unter anoxischen Bedingungen durchgeführt, indem die Luft im Probengefäß durch Einleitung von N₂ verdrängt wurde, um eine Reaktion der Aminosäuren mit dem Luftsauerstoff zu vermeiden (Hoke 2017).

Krippner (2015) hat in ihrer Arbeit folgende Hydrolysemethoden mithilfe des Haarstandards verglichen:

Methansulfonsäure (MSA) modifiziert nach Weiss *et al.* (1998)

Auf 1 mg Probe werden 200 µL 10 M MSA gegeben und bei 150 °C für 20 min inkubiert. Anschließend wird 300 µL destilliertes Wasser hinzugegeben und weitere 18 h bei 150 °C unter anoxischer Atmosphäre hydrolysiert. Abschließend wird die Lösung mit 500 µL 4 M NaOH neutralisiert und bei 90 °C bei geöffnetem Deckel unter dem Abzug verdunstet.

Konzentrierte Trifluoressigsäure und Salzsäure (Volumenverhältnis 1:2) (TFA/HCl) modifiziert nach Tsugita und Scheffler (1982)

Auf 1 mg Probe wird 1 mL Säuregemisch gegeben und unter anoxischen Bedingungen für 25 min bei 166 °C auf der Heizplatte hydrolysiert. Anschließend wird die Säure bei 90 °C bei geöffnetem Deckel unter dem Abzug abgeraucht.

Konzentrierte Propionsäure und Salzsäure (Volumenverhältnis 1:1) (Prop/HCl) modifiziert nach Westall und Hesser (1974)

Auf 1 mg Probe wird 1 mL Säuregemisch gegeben und unter anoxischer Atmosphäre für 15 min bei 160 °C auf der Heizplatte hydrolysiert. Anschließend wird die Säure bei 90 °C bei geöffnetem Deckel unter dem Abzug abgeraucht.

Salzsäure (HCl) modifiziert nach Hoke (2017)

Auf 1 mg Probe wird 1 mL 6 M HCl gegeben und unter anoxischer Atmosphäre für 18 h bei 150 °C auf der Heizplatte hydrolysiert. Anschließend wird die Säure bei 90 °C bei geöffnetem Deckel unter dem Abzug abgeraucht. Da 6 M HCl nicht immer ausreicht, um alle Haare aufzulösen, wurde die Methode folgendermaßen geändert: Auf 1 mg Probe wird 0,5 mL 12 M HCl gegeben und für 20 min bei 150 °C inkubiert, dann mit 0,5 mL destilliertem Wasser auf

6 M HCl verdünnt und unter anoxischer Atmosphäre für 18 h bei 150 °C auf der Heizplatte weiter hydrolysiert. Anschließend wird die Säure wieder bei 90 °C bei geöffnetem Deckel unter dem Abzug abgeraucht.

Da sich für Haare die modifizierte Methode mit 12 M HCl für 20 min und anschließender Hydrolyse mit 6 M HCl für 18 h als die geeignetste Methode herausstellte (vgl. Kapitel IV.1.4.1), wurde diese für alle Haaranalysen angewandt. Für Knochenkollagen und Muskelprotein wurde die Methode von Hoke (2017), also Hydrolyse mit 6 M HCl für 18 h, angewandt.

Das Hydrolysat wird anschließend in 1 mL SDB (Sample Dilution Buffer für physiologische Programme, SYKAM, pH: 2,20) gelöst, sodass diese Stammlösung eine Konzentration von 1 mg Aminosäuren pro mL SDB hat.

III.2.3.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Für die Aminosäureanalyse werden 150 µL der Stammlösung, aus der Hydrolyse der Proteinproben, mit 150 µL SDB verdünnt (Konzentration 0,5 mg/mL Aminosäuren) und in ein Probengefäß (Gewindefläschchen aus Borosilikatglas 2 mL, Roth) mit einem Deckel mit integriertem Silikon/PTFE Septum pipettiert. Der im SYKAM Amino Acid Analyzer S433 integrierte Autosampler kann bis zu 120 Probengefäße fassen, die in einem Lauf analysiert werden können. Bei jedem Analyse-Lauf wird ein interner Laborstandard (Haarstandard) als positiv Kontrolle, eine Leerprobe (SDB) als Negativkontrolle und ein Kalibrator (A9906, SYKAM) mitanalysiert. Tabelle 13 im Anhang zeigt die im Kalibrierstandard enthaltenen Aminosäuren, welche im Rahmen dieser Arbeit detektiert und quantifiziert werden konnten. Für die Analyse des Knochenkollagens wurde dem Kalibrator noch Hydroxylysin (OH-Lys) hinzugefügt.

Die Aminosäureanalyse funktioniert nach dem Prinzip der HPLC (*high performance liquid chromatography*). Die Analysen wurden mit dem SYKAM Amino Acid Analyzer S433 durchgeführt, dessen Aufbau schematisch in Abbildung 15 dargestellt ist. Der automatische Probengeber zieht 100 µL der Probe in die Kapillare, die zusammen mit Puffer A (Lithium-Citrat-Puffer A1, pH 2,9, Sykam) in die Trennsäule mündet. Im sauren Milieu sind die Aminosäuren protoniert und binden daher an das Kationenharz der Säule. Im Verlauf wird durch Zuleiten von Puffer B (Lithium-Citrat-Puffer B1, pH 4,2, Sykam) und Puffer C (Li-Citrat/Borat, pH 8,0, Sykam) der pH-Wert schrittweise erhöht, wodurch die verschiedenen Aminosäuren zu verschiedenen Zeiten ihren isoelektrischen Punkt erreichen, sich daher aus der

Bindung in der Säule lösen und zeitlich aufgetrennt werden (Condon 1986; Gey 2015). Anschließend wird dem Eluat aus der Trennsäule Ninhydrin beigemischt, welches sich bei 130 °C im nachgeschalteten Reaktor mit den Aminosäuren verbindet und diese dadurch der Detektion durch ein Photometer, bei einem Absorptionsmaximum von 570 nm, zugänglich macht. Prolin und Hydroxyprolin können durch andere chemische Eigenschaften (sie haben keine freien α -Aminogruppen) am besten bei 440 nm detektiert werden (Condon 1986).

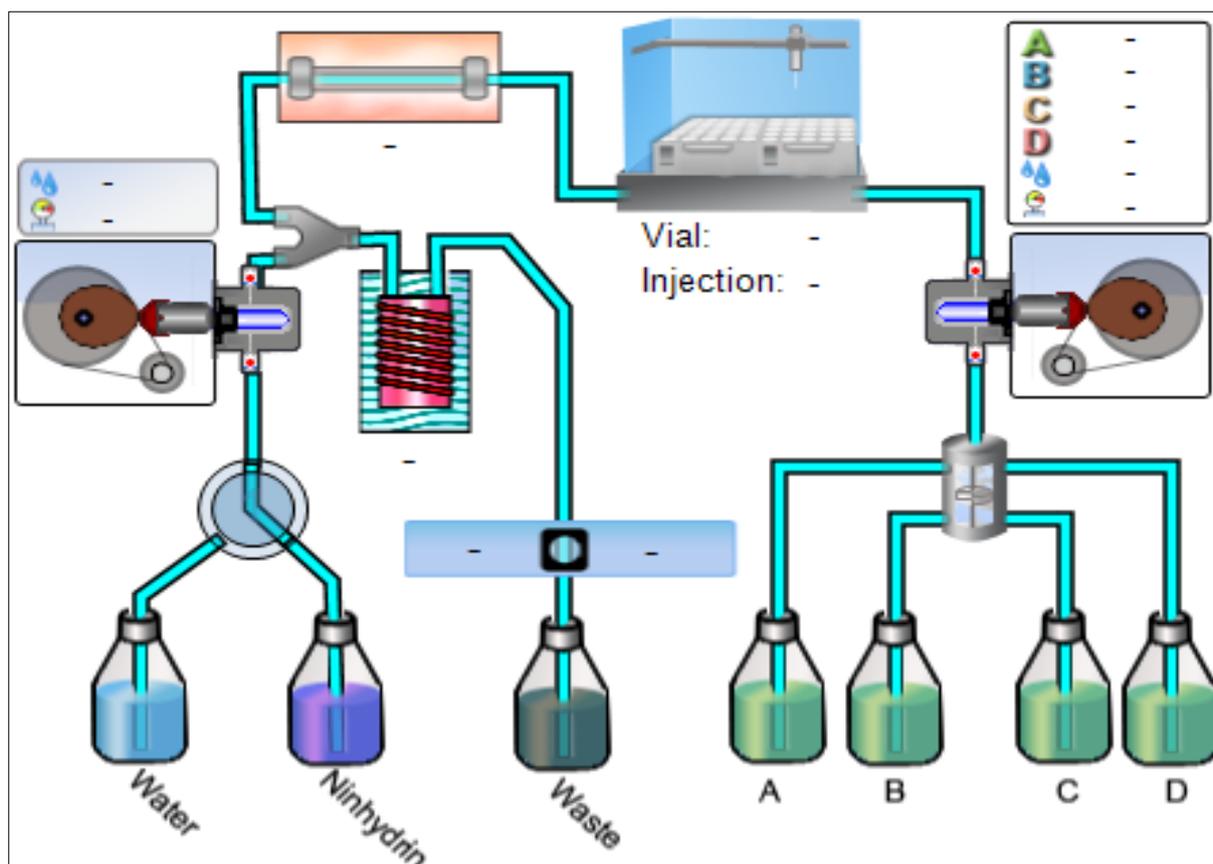


Abbildung 15: Schematischer Aufbau des SYKAM Amino Acid Analyzer S433.

III.2.3.3 Auswertung

Mithilfe der Software ChromStar 7.0.10 werden die Signale ausgewertet, indem die Intensität der detektierten Aminosäuren gegen die Zeit als Chromatogramm aufgetragen wird (z. B. Abbildung 27). Da die Konzentration der Aminosäuren im Kalibrator-Standard (A9906, SYKAM) bekannt ist, kann durch das Integral der Fläche unter einem Signal-Ausschlag (‚Peak‘) auf die Menge an Aminosäuren in Mol geschlossen werden. Durch die ursprüngliche Einwaage von 1 mg Protein für die Hydrolyse kann nun die Konzentration der einzelnen Aminosäuren in nmol/mg in der Probe errechnet werden. Weiterhin kann der Anteil einer Aminosäure am Gesamtprotein, welcher in nmol% angegeben wird, berechnet werden.

III.2.4 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurde das Programm GraphPad Prism 8.1.0 verwendet.

Für den Test, ob der Waschschrift eine signifikante Änderung des $\delta^{15}\text{N}$ - bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Werts bewirkt, wurden die Stichproben mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung überprüft. Waren die Werte normalverteilt, erfolgte ein Zweistichproben-t-Test für unabhängige Stichproben (H_0 : Isotopenwerte vor und nach dem Waschgang sind gleich; zweiseitig mit Signifikanz ab $P < 0,05$), bei fehlender Normalverteilung wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test angewandt (Schäfer 2011).

Um zu testen, ob sich die einzelnen Abschnitte der Anagenhaarsträhnen bezüglich der Kohlenstoffisotope bzw. Stickstoffisotope von den jeweiligen Abschnitten der unsortierten Strähnen unterscheiden (H_0 : Die mittlere Differenz der Messwerte unterscheidet sich nicht; zweiseitig, Signifikanz $P < 0,05$), wurde ein gepaarter Zwei-Stichproben t-Test durchgeführt. Die Normalverteilung wurde über den Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Bei nicht normalverteilten Werten wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt (Schäfer 2011). Dasselbe Testverfahren fand auch bei den Versuchen zur Reproduzierbarkeit statt (vgl. Kapitel IV.1.3.2).

Bei den physiologischen Veränderungen wurde untersucht, ob es eine signifikante Veränderung im Verlauf gibt. Konkret wurde getestet, ob sich die einzelnen Abschnitte von 3 Monate vor dem Tod bis perimortal signifikant untereinander unterscheiden. Hierfür wurde eine post-hoc Varianzanalyse durchgeführt (Schäfer 2011; Stahel 2002). Mithilfe des Statistikprogramms GraphPad Prism 8.1.0 wurde ein gemischtes Modell mit Geisser-Greenhouse Korrektur und anschließendem Tukey-Test zum paarweisen Vergleich der Mittelwerte durchgeführt.

Anhand der Zwillingsstudie sollte getestet werden, ob die Differenzen der $\delta^{15}\text{N}$ - bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bei eineiigen Zwillingspaaren kleiner sind als bei zweieiigen Paaren (H_0 : Die Δ -Werte bei eineiigen Zwillingen sind nicht kleiner, einseitiger Test, Signifikanz ab $P < 0,05$). Es wurde daher der Betrag der Differenzen der Isotopenwerte für die Zwillingspaare berechnet und als $\Delta\delta^{15}\text{N}$ - bzw. $\Delta\delta^{13}\text{C}$ -Wert angegeben (vgl. Tabelle 22). Die Normalverteilung der Werte wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Da diese nicht normalverteilt sind, wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test angewandt (Schäfer 2011).

IV ERGEBNISSE

IV.1 Methodische Verbesserungen

IV.1.1 Berücksichtigung der Wachstumsphasen bei der Probenvorbereitung

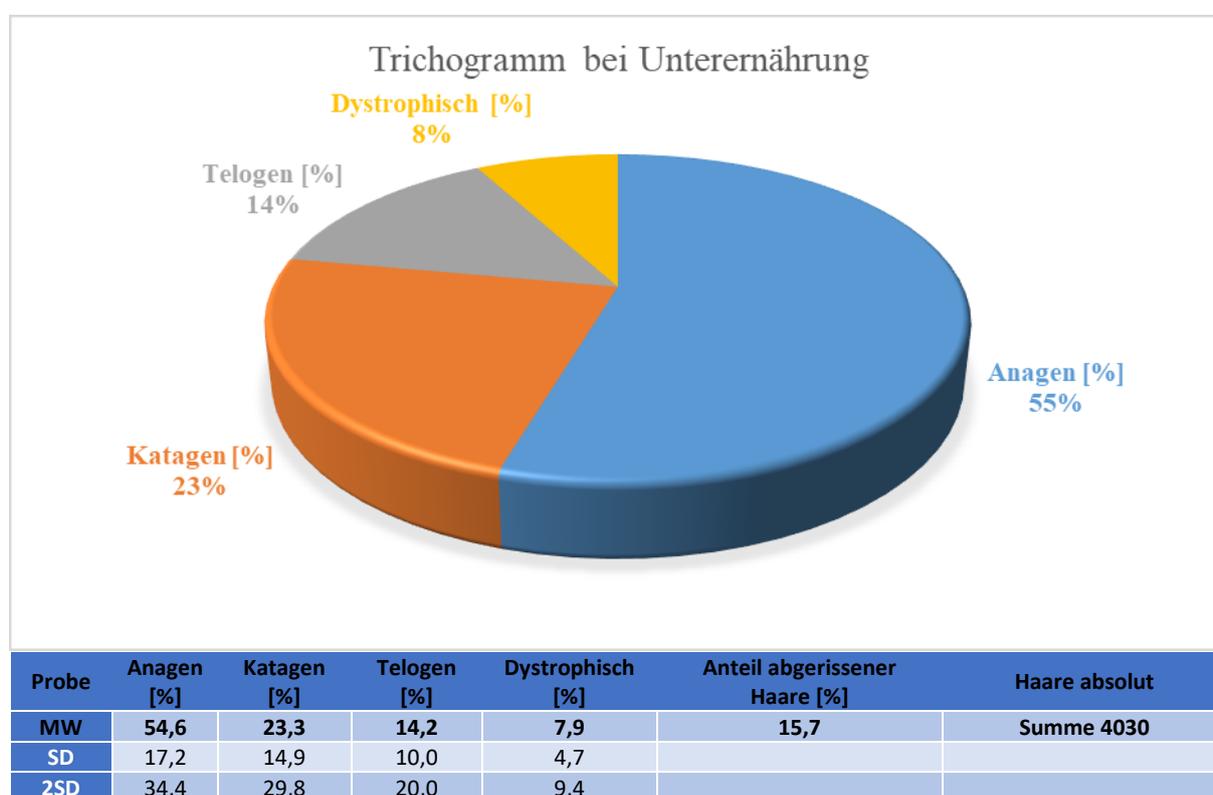


Abbildung 16: Verteilung der Haarwachstumsphasen bei den rechtsmedizinischen Probanden. Insgesamt wurden 4030 Haare von 16 Probanden mikroskopisch untersucht (für Details vgl. Tabelle 14).

Für die rechtsmedizinischen Probanden wurde ein Trichogramm erstellt, welches in Abbildung 16 zu sehen ist. Der Anteil der Anagenhaare liegt mit 55 % deutlich unter dem Wert gesunder Personen. Damit wird klar, dass sich ein großer Anteil der Haare einer Strähne bei unterernährten Probanden nicht im Wachstum befindet, aber noch in der Kopfhaut verbleibt und daher prinzipiell einen anderen Isotopenwert widerspiegelt, als angenommen. Der

Anagenhaar-Anteil schwankt zudem sehr stark: von rHP 10 mit 88 %, was dem Wert eines gesunden Menschen entspricht, bis rHP 16 mit 30 % (vgl. Tabelle 14).

IV.1.2 Vergleich der Waschschritte

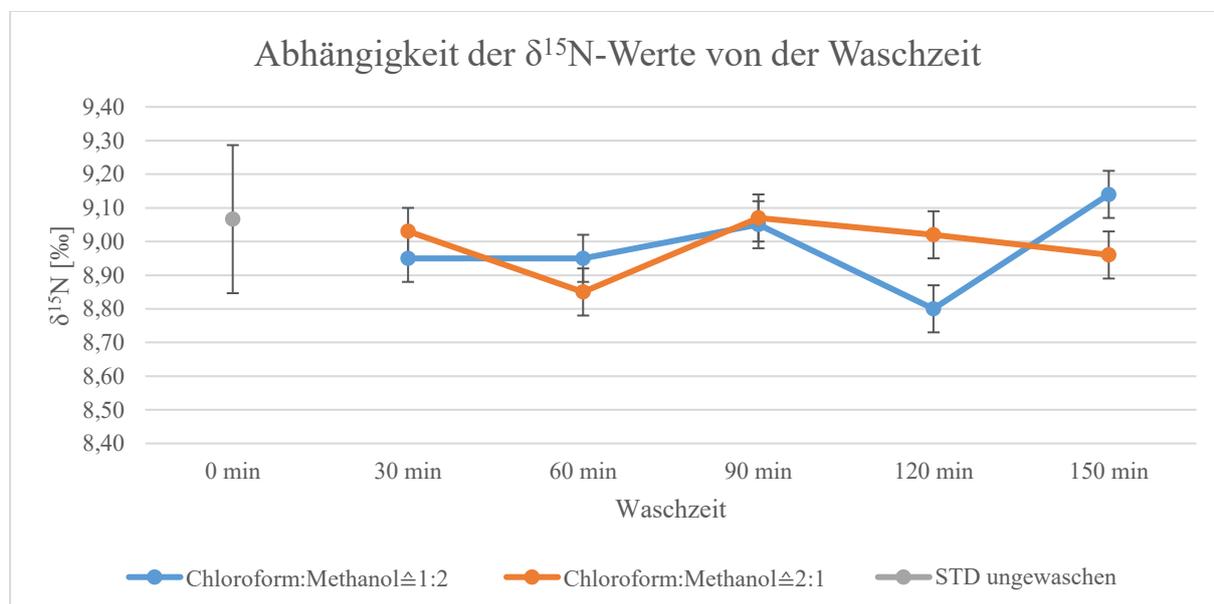


Abbildung 17: Einfluss der Waschlösung und der Einwirkzeit auf den $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Haarstandards. Der Fehlerindikator von Standard (STD) ungewaschen ist die Standardabweichung vom Mittelwert $\pm 0,22$ ‰. Die übrigen Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers (0,07 ‰).

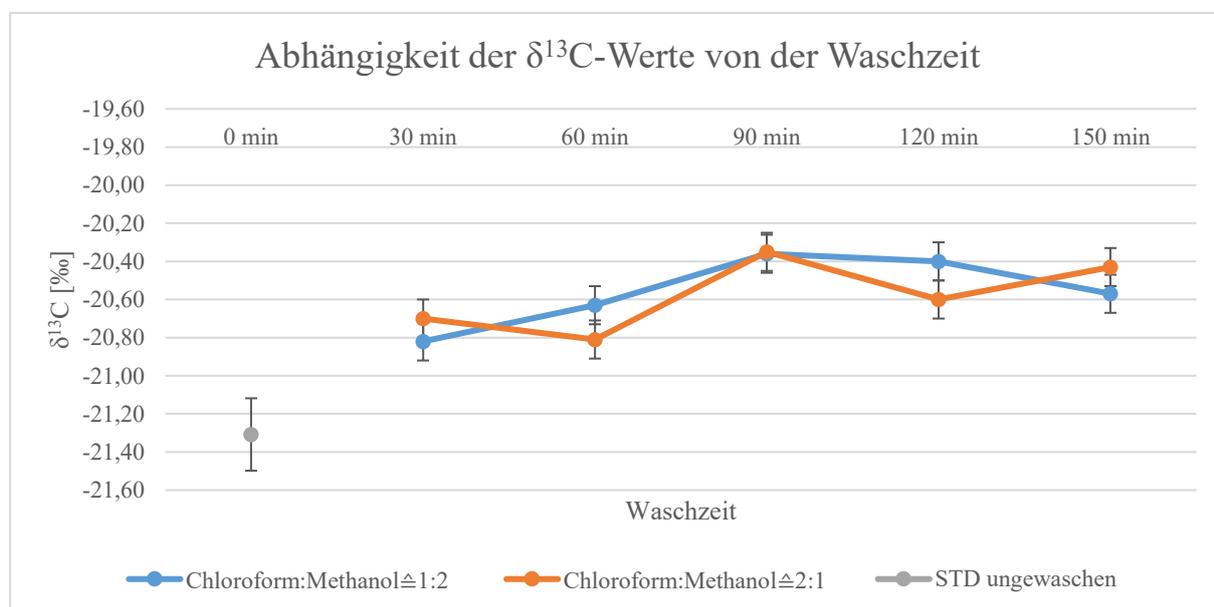


Abbildung 18: Einfluss der Waschlösung und der Einwirkzeit auf den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Haarstandards. Der Fehlerindikator von Standard (STD) ungewaschen ist die Standardabweichung vom Mittelwert $\pm 0,19$ ‰. Die übrigen Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers $\pm 0,1$ ‰.

Abbildung 17 und Abbildung 18 zeigen die Veränderungen des $\delta^{15}\text{N}$ -, bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Werts des ungewaschenen Haarstandards in Abhängigkeit von der Einwirkzeit der Waschlösungen. Die

δ -Werte für den ungewaschenen Standard (0 min Einwirkzeit; $\delta^{15}\text{N}=9,07\text{ ‰}$, SD 0,22 ‰; $\delta^{13}\text{C}=-21,31\text{ ‰}$, SD=0,19 ‰) setzen sich aus 20 Messungen zusammen, die restlichen Werte sind Einzelmessungen (Messungenauigkeit des Massenspektrometers 0,07 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$ und 0,1 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$). Die einzelnen Werte finden sich in Tabelle 15 und Tabelle 16. Es wird deutlich, dass sich die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte unabhängig von der Waschlösung und Einwirkzeit innerhalb der Standardabweichung des ungewaschenen Standards bewegen und der Waschschrift somit keinen Effekt auf die Stickstoffisotope hat. Im Gegenzug dazu wird der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert bei beiden Waschlösungen bereits nach kurzer Einwirkzeit (30 min) um ca. 0,5 ‰ positiver. Der Wert wird mit zunehmender Einwirkzeit positiver, bis zu einem Maximalwert von -20,35 ‰ bzw. -20,36 ‰ bei 90 Minuten. Anschließend bleibt der Wert konstant bzw. sinkt wieder leicht ab nach 150 Minuten. Bei der Chloroform:Methanol 2:1-Lösung (Volumenverhältnis) schwankt der Wert etwas mehr als bei einem 1:2 Volumenverhältnis. Nach 90 Minuten Einwirkzeit ist also das dem Haarstandard anhaftende Fett durch das Lösungsmittel herausgewaschen, sodass der Wert nicht positiver wird. Ein geringerer Anteil Chloroform in der Lösung liefert vermutlich stabilere Werte (vgl. Abbildung 18).

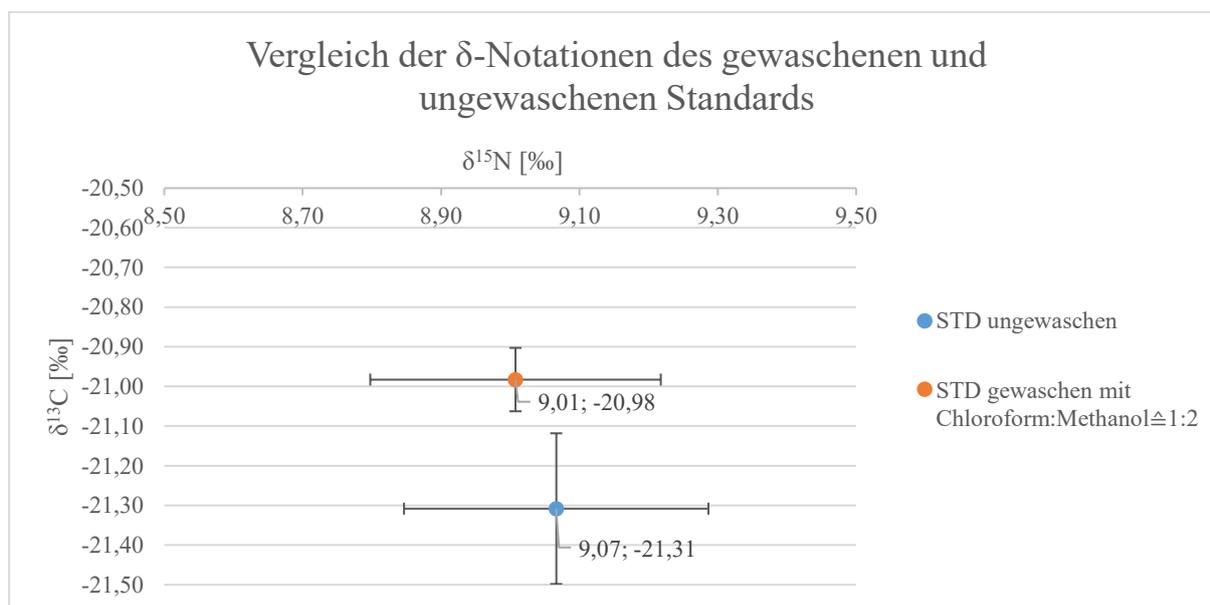


Abbildung 19: Vergleich der Mittelwerte der δ -Notationen von je 20 Proben des Standards vor und nach dem Waschschrift mit einer Chloroform-Methanol-Lösung im Verhältnis 1:2 für 1,5 h.

Da der Waschschrift mit 90 Minuten Einwirkzeit einer Chloroform:Methanol (1:2 v/v)-Lösung der geeignetste ist (vgl. Kapitel V.1.1.2), wurden mit diesem Protokoll 20 weitere Messungen durchgeführt. Abbildung 19 zeigt eine Gegenüberstellung des gewaschenen mit dem ungewaschenen Standard und die dazugehörigen Standardabweichungen für die $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte. Es wird deutlich, dass vor allem der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert durch den Waschschrift signifikant

positiver wird (von -21,31 ‰ auf -20,98 ‰, $P=0,0005$, normalverteilt, Zweistichproben-t-Test für unabhängige Stichproben). Der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert hingegen ändert sich kaum (von 9,07 ‰ auf 9,01 ‰, $P=0,3373$, nicht normalverteilt, Wilcoxon-Mann-Whitney-Test). Auch die Standardabweichung für die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte wird deutlich kleiner nach dem Waschschrift (0,19 ‰ auf 0,08 ‰), während sie bei den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten nahezu unverändert bleibt (0,22 ‰ auf 0,21 ‰). Die Standardabweichung für $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des gewaschenen Standards entspricht damit annähernd der Messungenauigkeit des Massenspektrometers für diese Messreihe (0,06 ‰). Der Waschschrift entfernt also nahezu alles anhaftende Fett und beeinflusst die Messungenauigkeit kaum.

IV.1.3 Analyse stabiler Isotope

IV.1.3.1 Vergleich der neuen Probenvorbereitung mit der bisherigen Methode

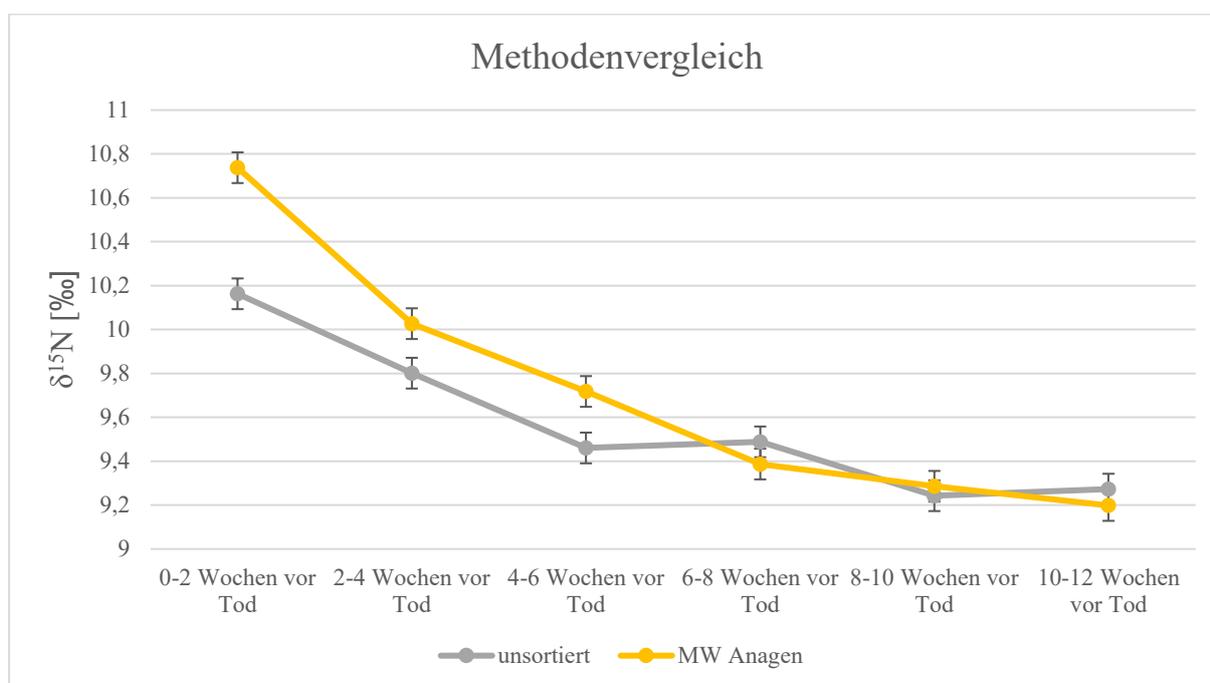


Abbildung 20: Vergleich der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von den unsortierten Haarsträhnen und den Mittelwerten (MW) der Anagenhaarsträhnen von den rechtsmedizinischen Haarproben 1-10. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,07$ ‰).

Bei zehn rechtsmedizinischen Probanden wurden je zwei Anagenhaarsträhnen und eine unsortierte Haarsträhne analysiert. Aus den beiden Anagenhaarsträhnen wurde der Mittelwert gebildet und mit der unsortierten Haarsträhne verglichen. Der Verlauf der Mittelwerte der rechtsmedizinischen Haarproben 1-10 ist in Abbildung 20 und Abbildung 21 dargestellt. Es zeigt sich zwölf Wochen prä mortal sowohl bei den $\delta^{13}\text{C}$ - als auch bei den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten ein nahezu identischer Ausgangswert für die Anagen- und unsortierten Haarsträhnen. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte erhöhen sich bis ca. sechs Wochen prä mortal. Ab der sechsten Woche vor dem Tod bis

perimortal steigt der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert bei den Anagenhaarsträhnen jedoch deutlich stärker an als bei den unsortierten Haarsträhnen. So erhöht sich der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert bei den Anagenhaarsträhnen um ca. 1,5 ‰ (von 9,25 ‰ zwölf Wochen vor dem Tod auf 10,74 ‰ perimortal) und bei den unsortierten Haarsträhnen nur um ca. 0,9 ‰ (von 9,27 ‰ zwölf Wochen vor dem Tod auf 10,16 ‰ perimortal). Die Dämpfung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte bei den unsortierten Haaren entspricht daher ca. 0,6 ‰. Der gepaarte zweiseitige t-Test ergab für die normalverteilten Werte von Abschnitt 1 einen signifikanten Unterschied ($P=0,0024$) zwischen dem Mittelwert der Anagenhaarsträhnen im Vergleich zu den unsortierten Haarsträhnen. Da Abschnitt 2 bei nicht normalverteilten Werten beim Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test keinen signifikanten Unterschied mehr aufwies, wurden die weiteren Abschnitte nicht mehr getestet.

Bei den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten ist der Anstieg geringer ausgeprägt, sodass sich kein signifikanter Unterschied zwischen Anagen- und unsortierter Haarsträhne erkennen lässt (vgl. Abbildung 21). Selbst bei Abschnitt 1, welcher bei den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten noch einen signifikanten Unterschied zeigte, ergab der gepaarte zweiseitige t-Test keinen signifikanten Unterschied ($P=0,8090$), sodass die weiteren Abschnitte nicht mehr getestet wurden. Die Werte steigen von -20,72 ‰ (unsortiert) bzw. -20,74 ‰ (Anagen) 12 Wochen vor dem Tod auf -20,51 ‰ (unsortiert) bzw. -20,48 ‰ (MW Anagen) und damit um insgesamt 0,21 ‰ (unsortiert) bzw. 0,26 ‰ (MW Anagen) an.

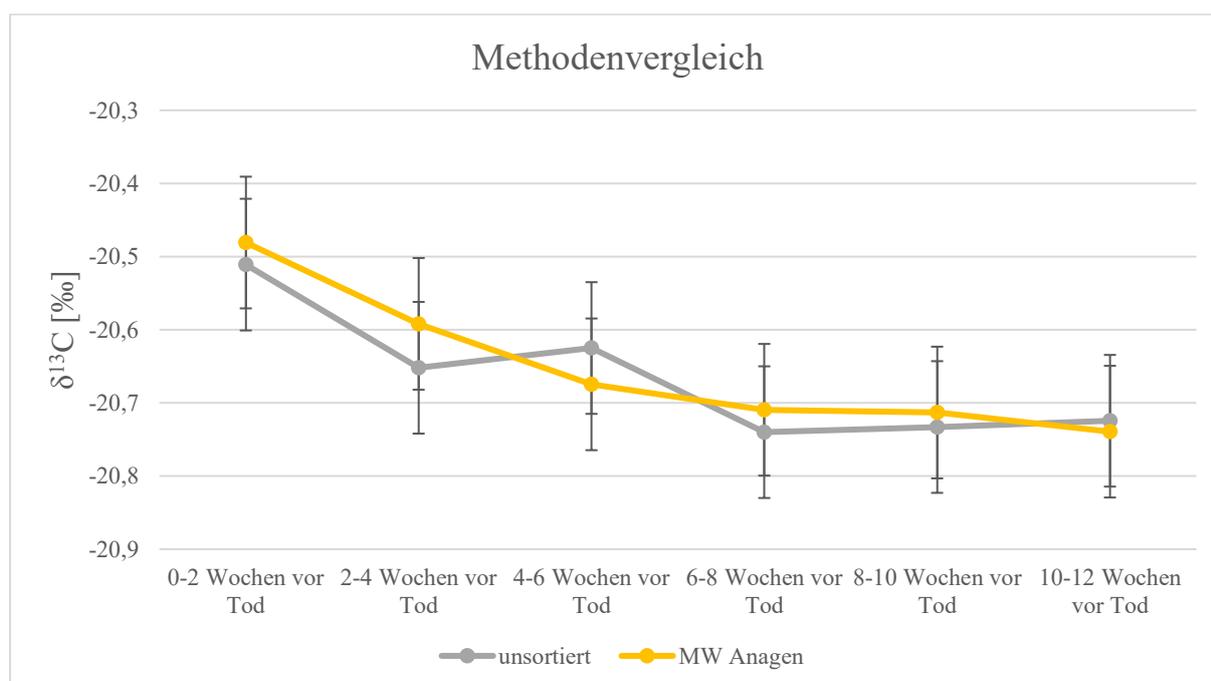


Abbildung 21: Vergleich der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von den unsortierten Haarsträhnen und den Mittelwerten (MW) der Anagenhaarsträhnen von den rechtsmedizinischen Haarproben 1-10. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,09$ ‰).

IV.1.3.2 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse

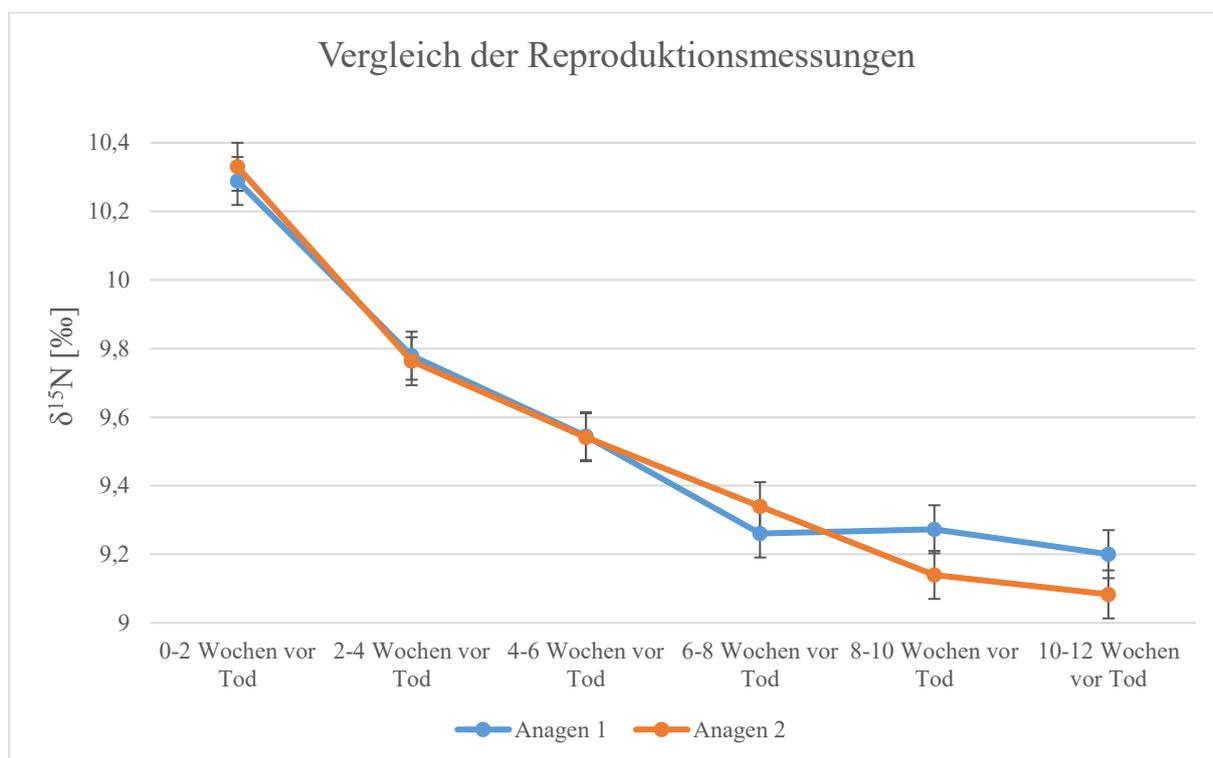


Abbildung 22: Mittelwerte der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der rechtsmedizinischen Proben für beide Messreihen der Anagenhaarsträhnen. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,07$ ‰).

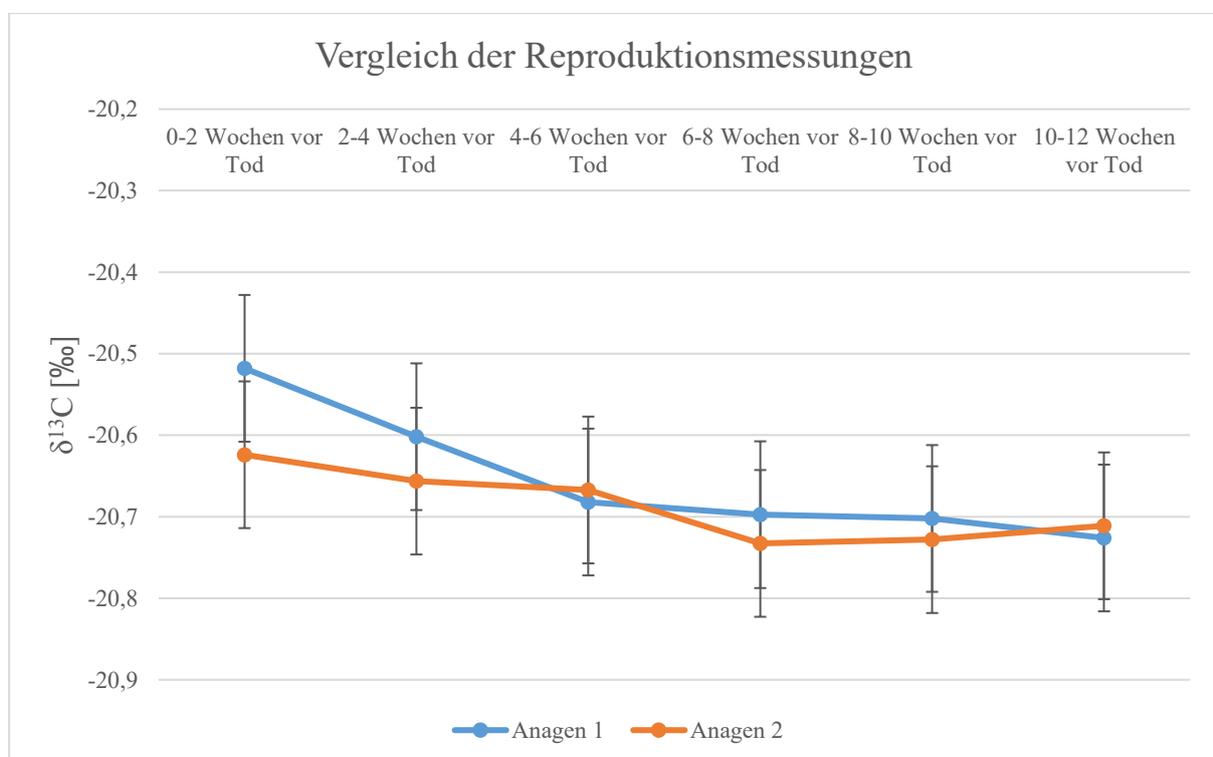


Abbildung 23: Mittelwerte der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der rechtsmedizinischen Proben für beide Messreihen der Anagenhaarsträhnen. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,09$ ‰).

Von 13 rechtsmedizinischen Probanden wurden jeweils zwei Anagenhaarsträhnen analysiert (vgl. Tabelle 6). Die Mittelwerte der ersten und zweiten Messreihe sind in Abbildung 22 und Abbildung 23 dargestellt. Diese sind alle innerhalb der Messungenauigkeit des Massenspektrometers reproduziert. Abschnitte, die weiter in der Vergangenheit zurückliegen, also weiter von der Haarwurzel entfernt sind, zeigen bei den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten tendenziell größere Abweichungen zwischen den Messreihen. Mit 0,13 ‰ findet sich die größte Abweichung bei Abschnitt *„8-10 Wochen vor Tod“*. Sie ist jedoch kleiner als die zweifache Standardabweichung (0,14 ‰). Bei den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten liegen die Werte ebenfalls sehr dicht beieinander. Die größte Differenz (0,1 ‰) zeigt sich bei Abschnitt *„0-2 Wochen vor dem Tod“* und ist somit ebenfalls kleiner als die zweifache Standardabweichung (0,18 ‰). Analysen bis 3 Monate vor dem Tod sind also innerhalb der Messungenauigkeit reproduzierbar.

Bei 12 Probanden wurden je sechs Abschnitte analysiert (bei rHP 9 wegen kurzer Haarlänge nur fünf Abschnitte) und somit je Messreihe (Anagen 1 bzw. 2) 77 Werte generiert. Der gepaarte zweiseitige t-Test ergab bei normalverteilten $\delta^{15}\text{N}$ -Werten keinen signifikanten Unterschied ($P=0,49$). Anagen 2-Anagen 1 unterscheiden sich im Mittel um -0,02 ‰ (SD 0,30) für $\Delta\delta^{15}\text{N}$. Die nicht normalverteilten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zeigten beim Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test ebenfalls keinen signifikanten Unterschied ($P=0,56$). Der Mittelwert aus Anagen 2-Anagen 1 ist 0,03 ‰ (SD 0,29) für $\Delta\delta^{13}\text{C}$.

IV.1.4 Aminosäureanalyse

IV.1.4.1 Hydrolyseverfahren

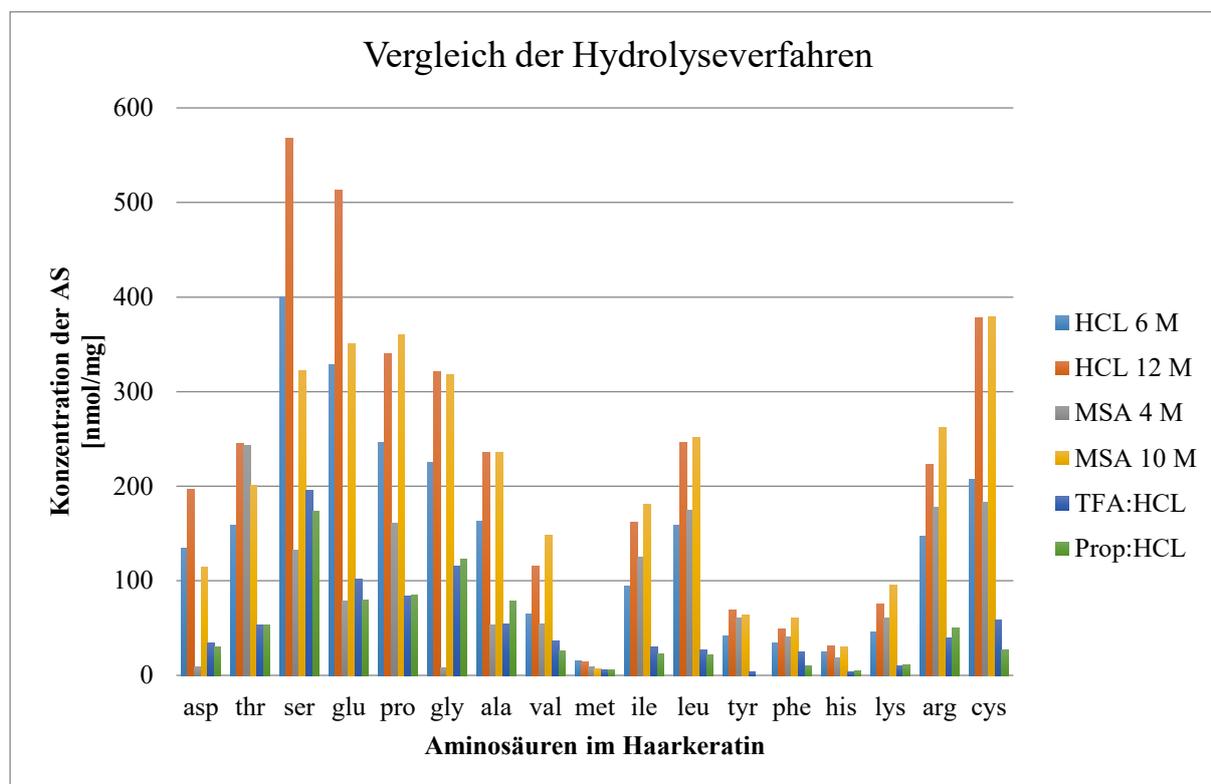


Abbildung 24: Vergleich der Ausbeute in Nanomol Aminosäuren pro Milligramm Haar von sechs verschiedenen Hydrolyseverfahren (Abbildung aus Krippner (2015)).

Abbildung 24 zeigt die Ausbeute für die einzelnen Aminosäuren in nmol/mg. Es wird deutlich, dass starke Säuren wie 10 M MSA oder 12 M HCl die größte Ausbeute bringen, während bei den schwächeren Säuren 4 M MSA und 6 M HCl bzw. bei den Methoden mit kurzer Einwirkzeit TFA:HCl und Prop:HCl weniger Aminosäuren analysiert werden können. Abbildung 25 vergleicht die Protein-Aufschlussverfahren hinsichtlich der Übereinstimmung des Aminosäureprofils mit dem Literaturwert aus Yu *et al.* (1993). Bei 7 von 17 Aminosäuren kommt 10 M MSA dem Literaturwert in nmol% als Anteil der Aminosäure am Gesamtprotein am nächsten, gefolgt von 12 M HCl, bei der dies in 5 von 17 Aminosäuren der Fall ist. Bei Prop:HCl und TFA:HCl hingegen gibt es die größten Abweichungen im Aminosäureprofil im Vergleich zum Literaturwert.

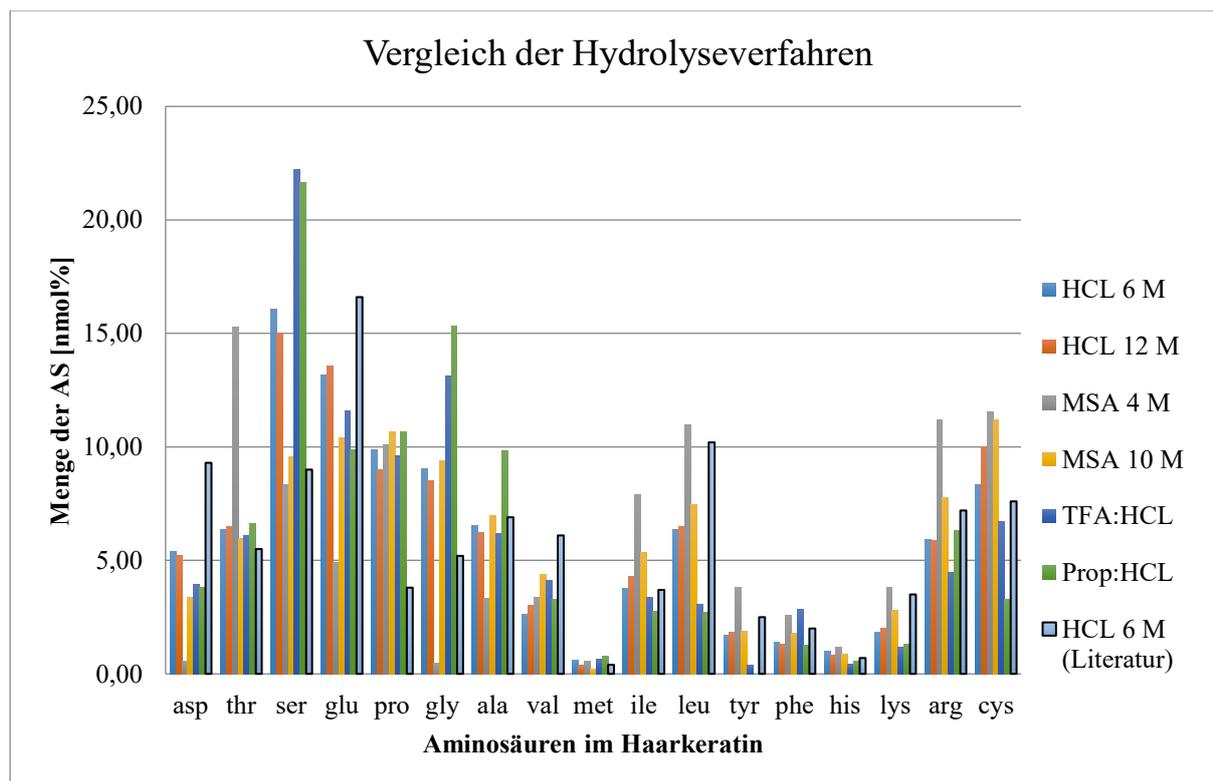


Abbildung 25: Vergleich des Aminosäureprofils von Haarkeratin bei verschiedenen Hydrolyseverfahren und dem Literaturwert aus Yu *et al.* (1993). Die Abbildung wurde aus den Daten von Krippner (2015) generiert.

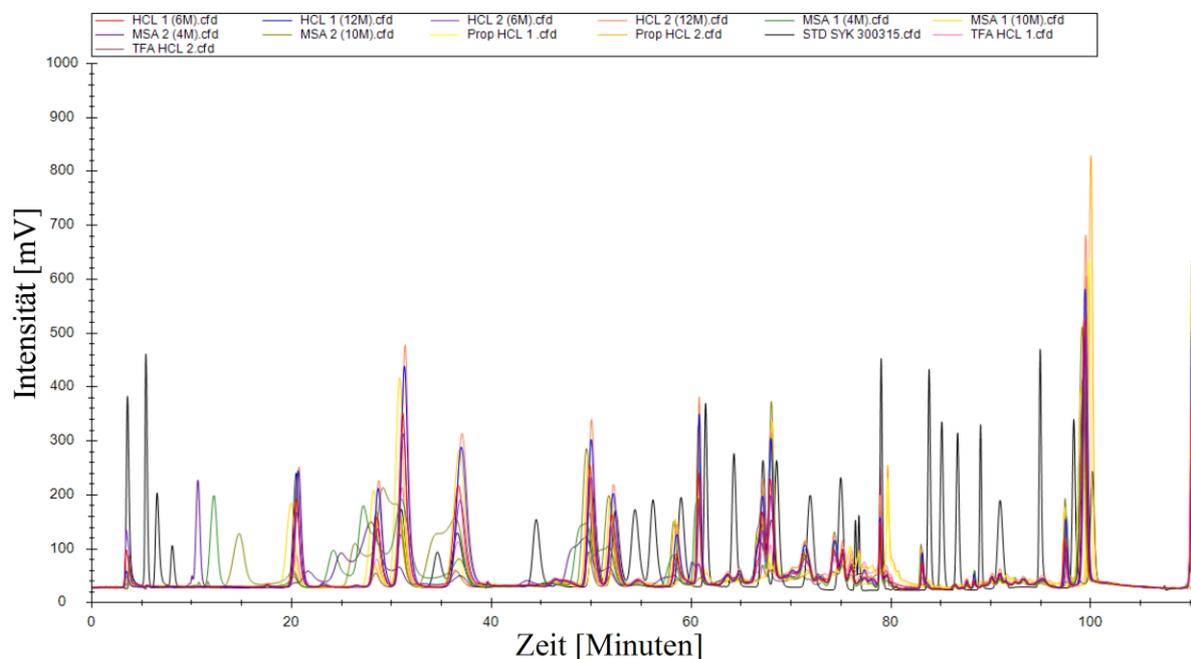


Abbildung 26: Vergleich der Chromatogramme der verschiedenen Aufschlussmethoden. Die Y-Achse entspricht der Intensität des Signals in Millivolt, die X-Achse entspricht der Zeit, nach welcher die jeweilige Aminosäure detektiert wird. Besonders zwischen Minute 20 und 40 werden die Aminosäuren nicht bei allen Aufschlussmethoden adäquat aufgetrennt.

Jede Hydrolysemethode wurde zweimal durchgeführt, um sie auf ihre Reproduzierbarkeit hin zu testen. Abbildung 26 zeigt die Chromatogramme der verschiedenen Aufschlussverfahren mit je zwei Analysen. Die Ordinate gibt die Intensität des detektierten Signals in mV wieder, die gegen die Retentionszeit der Aminosäuren auf der Abszisse aufgetragen wird. Gerade zwischen der 20. und 40. Minute werden bei vielen Aufschlussmethoden die Aminosäuren nicht adäquat aufgetrennt, sodass die einzelnen Peaks nicht klar zu unterscheiden sind. Dies trifft insbesondere auch für 10 M MSA zu, die ansonsten vergleichbar gute Ergebnisse wie 12 M HCl lieferte. Abbildung 27 zeigt die beiden Chromatogramme der Hydrolyse mit 12 M HCl. Es ist zu erkennen, dass diese nahezu deckungsgleich und somit reproduzierbar sind. Weiterhin sind die einzelnen Peaks, dessen Integral der Fläche proportional zur Menge der Aminosäure ist, klar voneinander abgrenzbar und somit eindeutig bestimmbar. Außerdem finden sich kaum Peaks, die nicht im Standard enthalten sind, also kaum unbekannte Verbindungen bzw. Abbauprodukte von Aminosäuren.

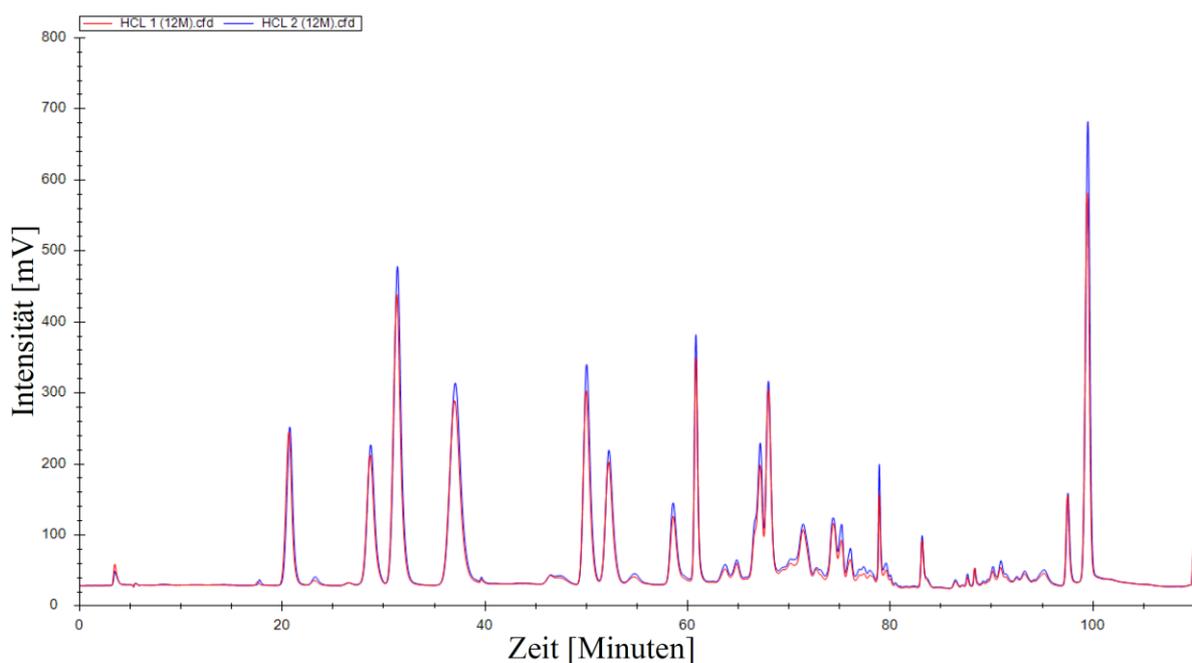


Abbildung 27: Vergleich der Chromatogramme von den beiden Aminosäure-Aufschlüssen mit 12 M HCl. Die Flächen unter den Peaks sind nahezu identisch. Zudem werden kaum zusätzliche Peaks detektiert, welche z. B. durch Abbauprodukte von Aminosäuren zustande kommen. Die Y-Achse entspricht der Intensität des Signals in Millivolt, die X-Achse entspricht der Zeit, nach welcher die jeweilige Aminosäure detektiert wird.

Tabelle 7: Übersicht der Kriterien für die praktikabelste Aufschlussmethode für Haarkeratin. Eine positive Bewertung wird durch „+“, eine negative Bewertung durch „-“ und eine neutrale Bewertung durch „0“ ausgedrückt (Tabelle aus Krippner (2015)).

Kriterien	HCL 6 M	HCL 12 M	MSA 4 M	MSA 10 M	TFA HCL	Prop. HCL
Ausbeute [nmol/mg]	-	+	-	+	-	-
nmol % im Vergleich mit dem Literaturwert aus Yu <i>et al.</i> (1993)	-	+	-	+	-	-
Vergleichbarkeit der Ergebnisse (Standard-Hydrolysemethode: 6 M HCL)	+	0	-	-	-	-
Reproduzierbarkeit der Ergebnisse	+	+	-	-	-	+

Um die geeignetste Hydrolysemethode objektiv ermitteln zu können, wurde von Krippner (2015) ein Kriterienkatalog erstellt, der die Aminosäureausbeute, die Übereinstimmung des Aminosäureprofils mit dem Literaturwert von Yu *et al.* (1993), die Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit der am häufigsten verwendeten Hydrolysemethode (6 M HCl) und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse berücksichtigt. Neben den vorher bereits beschriebenen Kriterien wurde die Vergleichbarkeit der Ergebnisse als eigenes Kriterium aufgenommen, da unter anderen in der Vorgängerstudie von Neuberger (2013) die Hydrolyse mit 6 M HCl Anwendung fand. Für jedes Kriterium wird ein Ordinalskalenniveau angewandt, das aus drei Merkmalen besteht, nämlich negativ (-), neutral (0) und positiv (+). In Tabelle 7 sind die Ergebnisse des Vergleichs der verschiedenen Hydrolyseverfahren abgebildet. Die besten Ergebnisse erzielte die Hydrolyse mit 12 M HCl, die dreimal positiv und einmal neutral bewertet wurde. Bei der Hydrolyse mit 6 M HCl reicht die Säure oft nicht aus, um alles Keratin in Lösung zu bringen, was die Ausbeute verringert und damit keine Aussage über die Konzentration einer Aminosäure im Protein in nmol/mg erlaubt. Die anderen Aufschlussmethoden lassen sich entweder schlechter reproduzieren, sind schwer vergleichbar mit anderen Studien oder weichen zu stark vom Literaturwert ab, so dass für die folgenden Analysen die eigens modifizierte saure Hydrolyse nach Hoke (2017) mit 12 M HCl angewandt wurde.

IV.1.4.2 Haarstandard

Die unter Kapitel III.1.4 beschriebenen Friseurhaare dienen als interner Laborstandard. Krippner (2015) analysierte dazu 38 Proben. Das daraus resultierende Aminosäureprofil des Haarkeratins ist als Tortendiagramm in Abbildung 28 dargestellt. In Tabelle 19 finden sich die Mittelwerte mit Standardabweichung der einzelnen Aminosäuren des internen Laborstandards

für Haarkeratin, wobei die Summe der 17 Aminosäuren 100 % ergibt und der Wert jeder einzelnen Aminosäure deren Anteil in nmol% am Keratin entspricht.

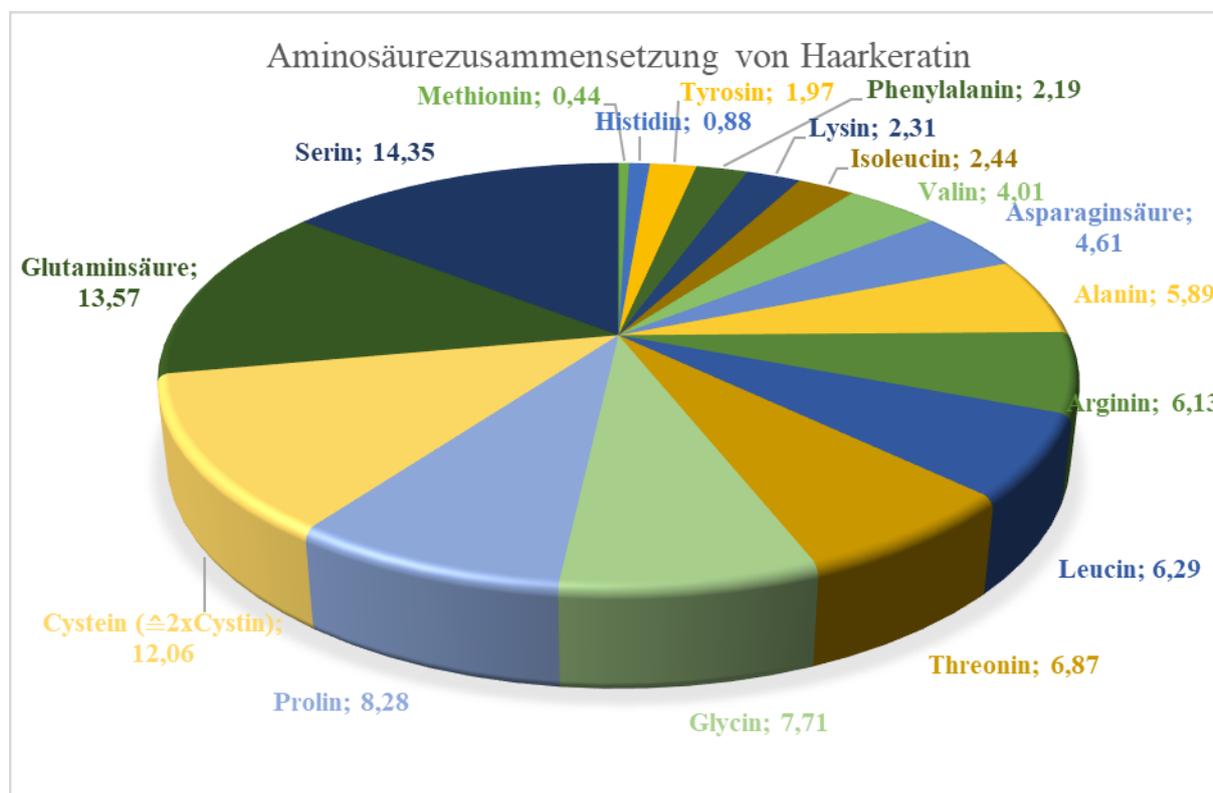


Abbildung 28: Aminosäurezusammensetzung von Haarkeratin des internen Standards (Mittelwerte aus 38 Analysen, Angaben in nmol%, vgl. auch Tabelle 19, Daten aus Krippner (2015)).

IV.2 Physiologische Veränderungen

IV.2.1 Veränderung der stabilen Isotope bei Unterernährung

IV.2.1.1 Stabile Isotope der Haare im retrospektiven Verlauf

Abbildung 29 und Abbildung 30 zeigen den Verlauf der Isotopenwerte bei Unterernährung als Mittelwert aus allen 16 rechtsmedizinischen Probanden. Bei rHP 11, 12 und 16 konnte nur eine Anagenhaarsträhne analysiert werden. Bei den restlichen Probanden wurde der Mittelwert aus den zwei Anagenhaarsträhnen herangezogen.

Der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert steigt bei Unterernährung kontinuierlich an (von 9,09 ‰ auf 10,15 ‰). Während er sich 12 bis 2 Wochen vor dem Tod um ca. 0,06 ‰ pro Woche erhöht, steigt er in den letzten beiden Wochen vor dem Tod insgesamt nochmals um ca. 0,5 ‰ kräftig an. An der Regressionsgeraden von Abbildung 29 kann man unter der Annahme eines linearen Verlaufs bei Unterernährung ablesen, dass sich der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert pro Woche um ca. 0,1 ‰ erhöht.

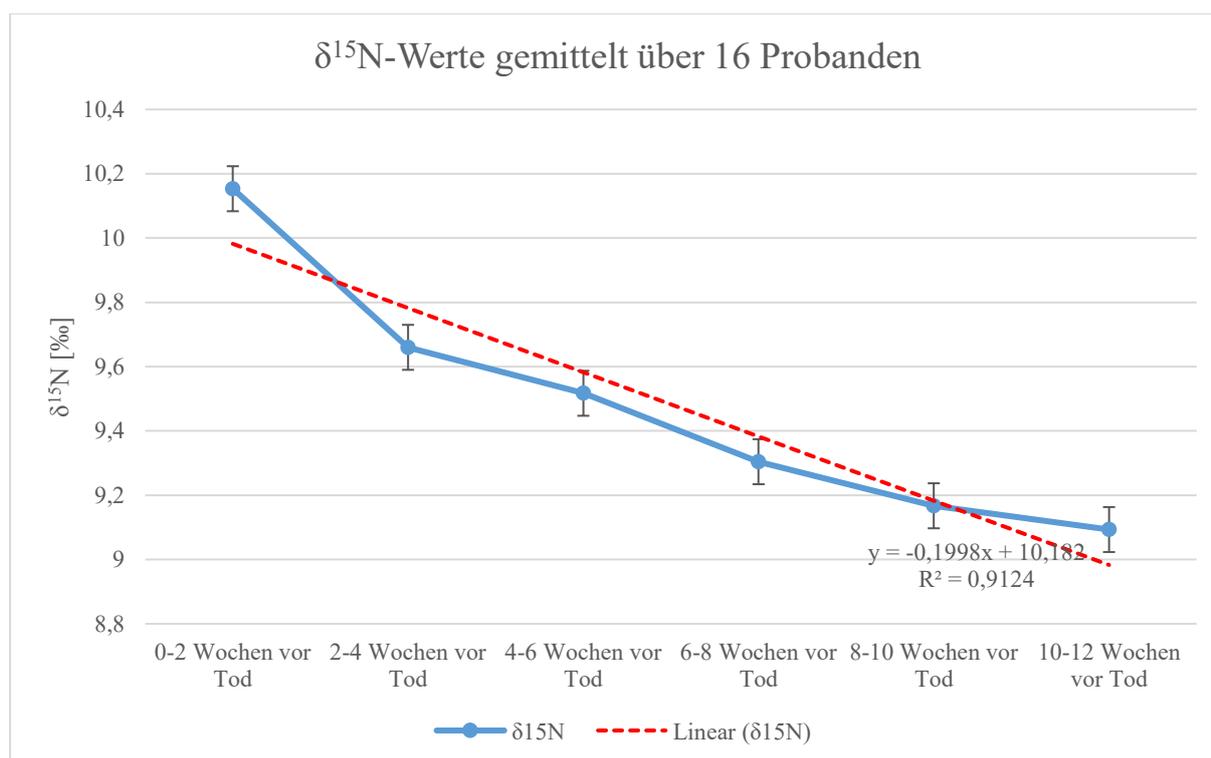


Abbildung 29: Veränderung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte im zeitlichen Verlauf ab zwölf Wochen vor dem Tod bei rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,07$ ‰).

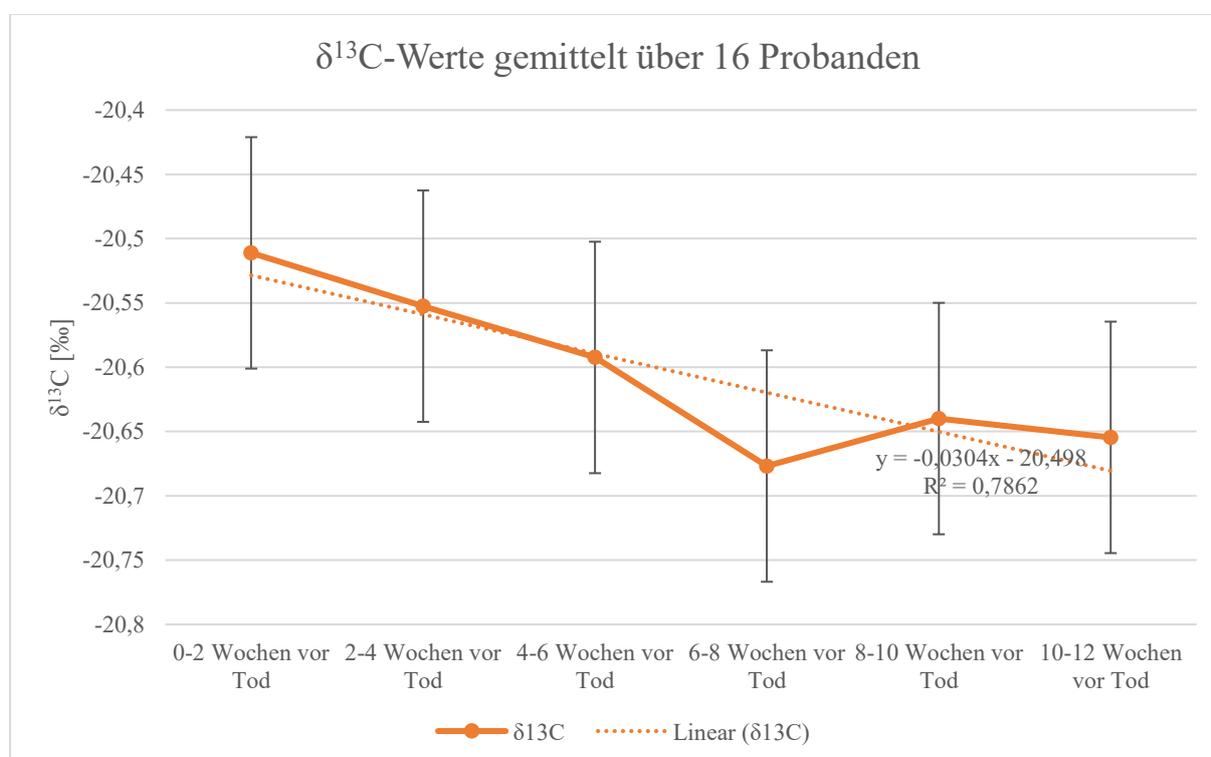


Abbildung 30: Veränderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im zeitlichen Verlauf ab zwölf Wochen vor dem Tod bei rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,09$ ‰).

Auch der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert steigt im Verlauf kontinuierlich an (von -20,65 ‰ auf -20,51 ‰), jedoch geringer als die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte. Abgesehen von dem Wert ‚6-8 Wochen vor Tod‘ steigt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert um ca. 0,015 ‰ pro Woche. Aufgrund der Messungenauigkeit des Massenspektrometers, welche maximal bis zu 0,09 ‰ beträgt, ist eine Änderung des Isotopenwerts bei Unterernährung daher erst bei längeren Perioden detektierbar.

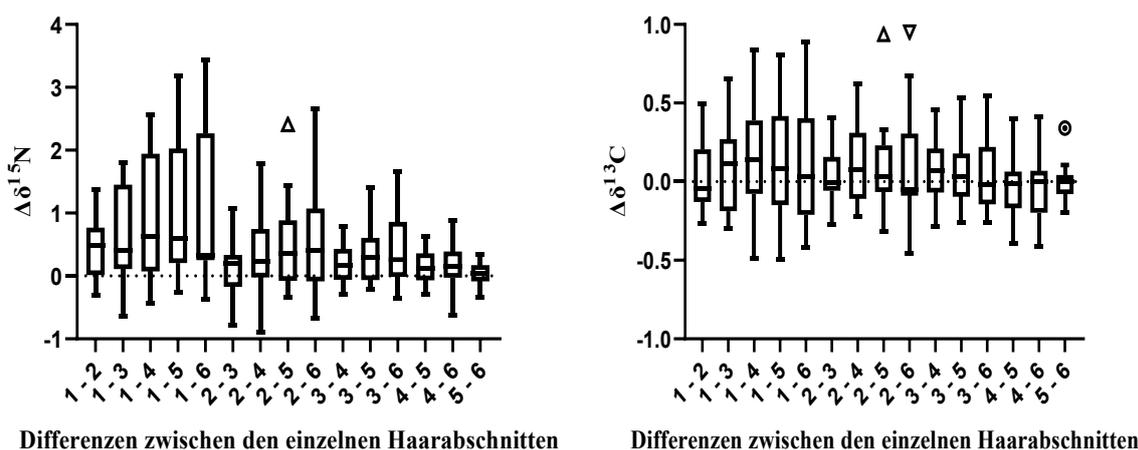


Abbildung 31: Grafische Darstellung der Varianzanalyse in Form von Box-Plots (Tukey) erstellt durch GraphPad Prism 8.1.0. Angezeigt werden die Mittelwerte der Differenzen zwischen den einzelnen Abschnitten für die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte und ihre Varianz.

Betrachtet man die Box-Plots in Abbildung 31 fallen Mittelwertunterschiede zwischen den einzelnen Haarabschnitten (1-6) auf, die den jeweiligen Wochen vor dem Tod entsprechen (vgl. Abbildung 11). Alle Werte der sechs Abschnitte von insgesamt 16 Probanden (bei Proband 9 nur fünf Abschnitte) sind sowohl für die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte als auch für die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte normalverteilt (Kolmogorov-Smirnov-Test). Bei der durchgeführten Varianzanalyse zeigte sich, dass es für die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Abschnitten gibt. Für die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen Abschnitt 1 und allen weiteren Abschnitten 2-6 (für alle Mittelwertvergleiche $P < 0,05$). Weitere signifikante Unterschiede ($P < 0,05$) konnten zwischen den anderen Abschnitten nicht gefunden werden. Dieses Ergebnis spiegelt sich bereits grafisch in Abbildung 29 bis Abbildung 31 wider, in welchen deutlich wird, dass vor allem der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert 0-2 Wochen vor dem Tod signifikant erhöht ist.

IV.2.1.2 Vergleich der verschiedenen Gewebe

Abbildung 32 bzw. Abbildung 34 zeigen die $\delta^{15}\text{N}$ - bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der verschiedenen Gewebe für die einzelnen rechtsmedizinischen Probanden, Abbildung 33 bzw. Abbildung 35 zeigen die durchschnittlichen $\delta^{15}\text{N}$ - bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Werte für die Gewebe, gemittelt über zwölf Probanden. Bei den Haaren wird der perimortale Wert sowie der Isotopenwert zwölf Wochen vor dem Tod angegeben, um zusätzlich den Isotopenwert zu Beginn der Unterernährung abzubilden.

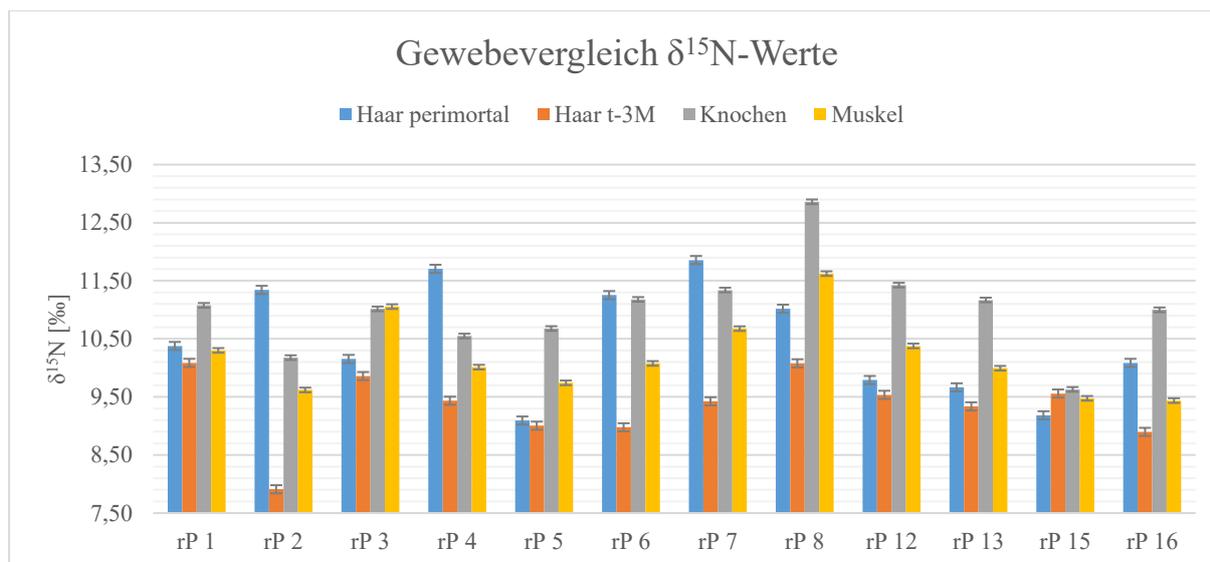


Abbildung 32: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der verschiedenen Gewebe der rechtsmedizinischen Proben (rP). Die Fehlerindikatoren entsprechen der größten Messgenauigkeit des Massenspektrometers für das jeweilige Gewebe (für Haar perimortal und Haar t-3M $\pm 0,07$ ‰; für Muskel und Knochen $\pm 0,04$ ‰). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod.

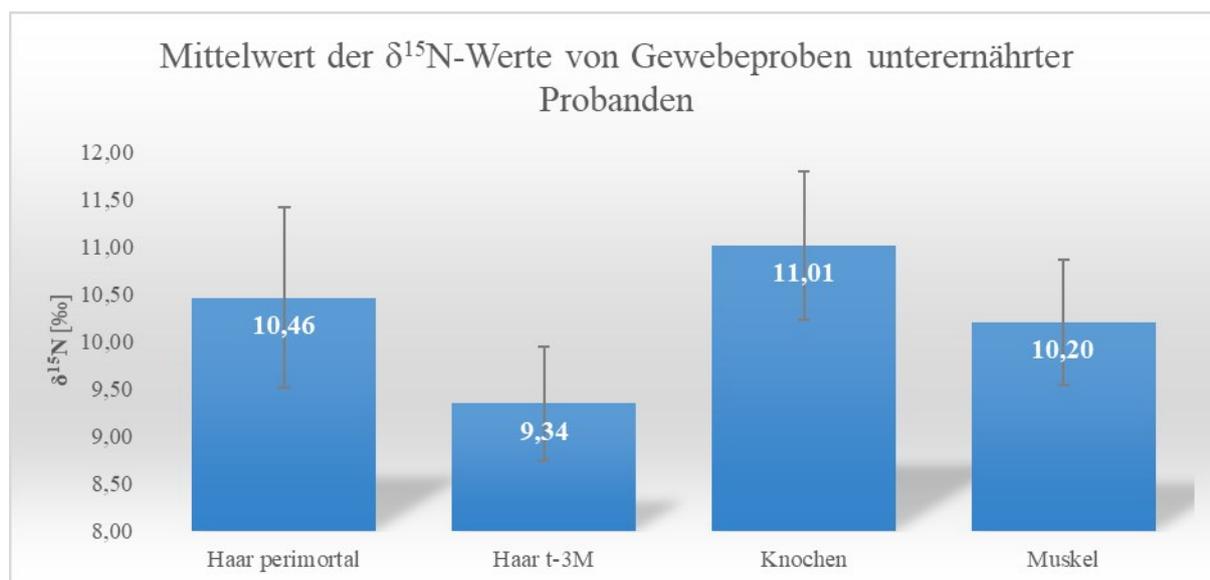


Abbildung 33: Mittelwerte der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der verschiedenen Gewebe von rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung. Die Fehlerindikatoren entsprechen jeweils den Standardabweichungen vom Mittelwert (Haar perimortal $\pm 0,9$ ‰, Haar t-3M $\pm 0,6$ ‰, Knochen $\pm 0,8$ ‰, Muskel $\pm 0,7$ ‰). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod.

Der höchste $\delta^{15}\text{N}$ -Wert ist meist derjenige des Knochenkollagens. Der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Muskels ist immer höher als der des Haares 12 Wochen vor dem Tod. Perimortal steigt der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert an und übersteigt teilweise den Wert des Muskels (rHP 1, 2, 4, 6, 7 und 16).

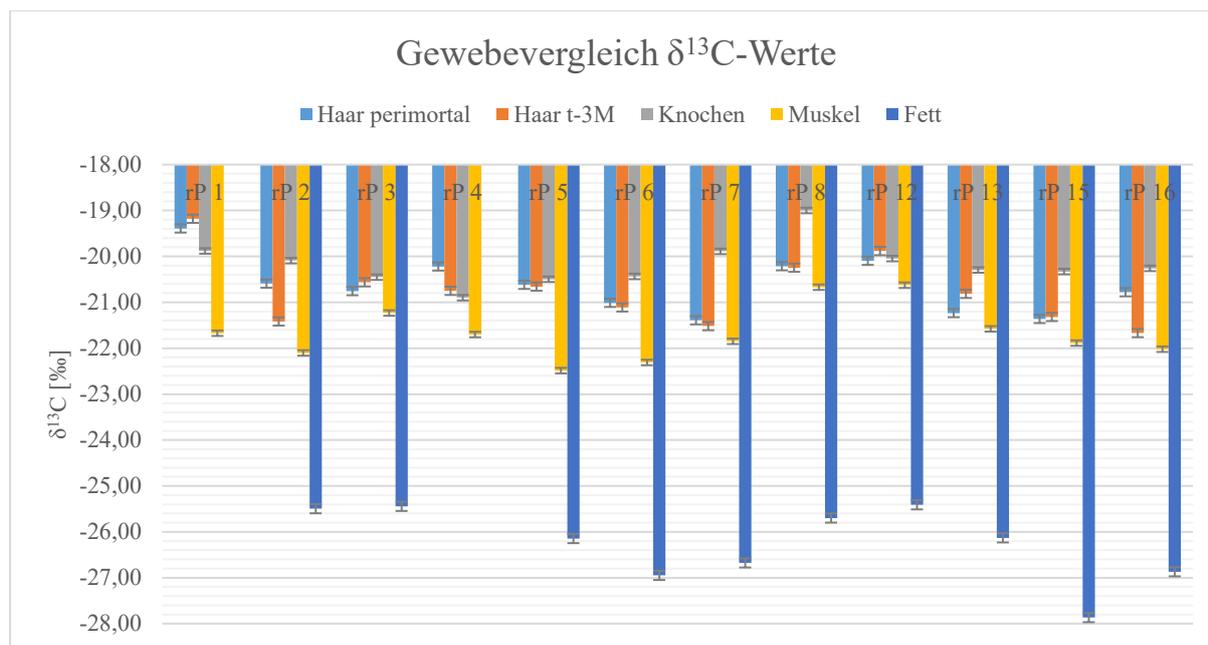


Abbildung 34: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der verschiedenen Gewebe von rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung (rP). Die Fehlerindikatoren entsprechen der größten Messgenauigkeit des Massenspektrometers für das jeweilige Gewebe (Haar perimortal und Haar t-3M $\pm 0,09$ ‰, Muskel $\pm 0,06$ ‰, Knochen $\pm 0,06$ ‰, Fett $\pm 0,1$ ‰). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod.

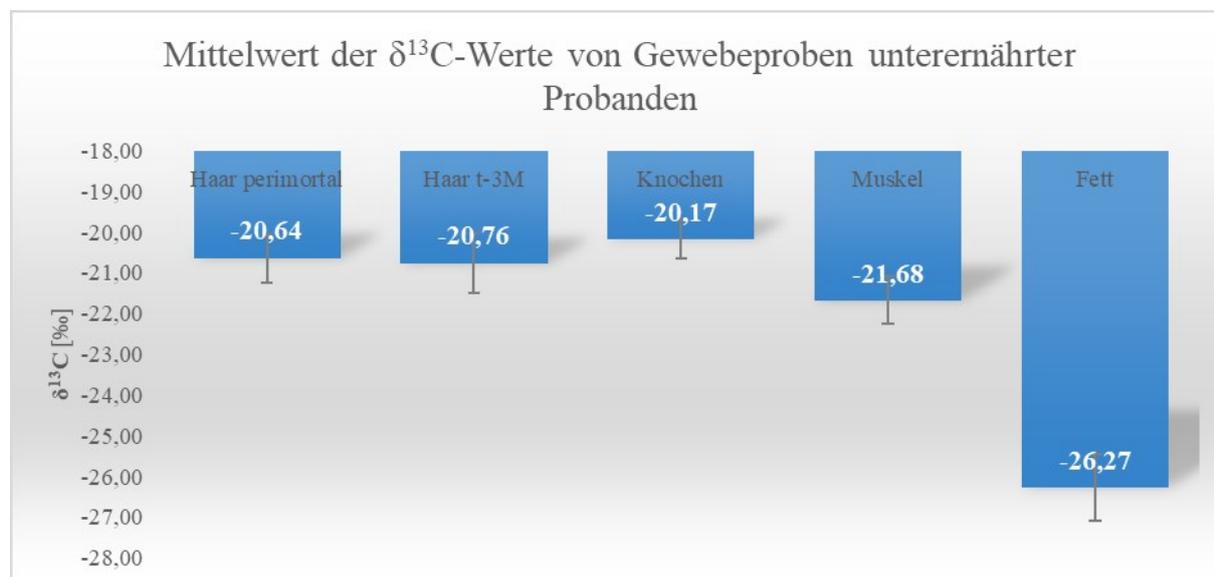


Abbildung 35: Mittelwerte der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der verschiedenen Gewebe von rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung. Die Fehlerindikatoren entsprechen jeweils der Standardabweichung vom Mittelwert (Haar perimortal $\pm 0,6$ ‰, Haar t-3M $\pm 0,7$ ‰, Knochen $\pm 0,5$ ‰, Muskel $\pm 0,6$ ‰, Fett $\pm 0,8$ ‰). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod.

Die niedrigsten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte sind diejenigen des Fettgewebes mit durchschnittlich $-26,3$ ‰. Bei rHP 1 und 4 konnte kein Fettgewebe analysiert werden, da aufgrund der fortgeschrittenen Unterernährung nicht ausreichend subkutanes Fettgewebe beprobt werden konnte. Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Muskels ist mit $-21,7$ ‰ ebenfalls negativer als der von Haaren und Knochen, welche

zwischen -20 ‰ und -21 ‰ liegen. Die höchsten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte sind zumeist diejenigen des Kollagens mit durchschnittlich -20,17 ‰.

IV.2.2 Veränderungen der Aminosäurezusammensetzung bei Unterernährung

IV.2.2.1 Aminosäurezusammensetzung im retrospektiven Verlauf

In den folgenden vier Abbildungen werden die Veränderungen der Aminosäuren im Haarkeratin im retrospektiven Verlauf bei Unterernährung betrachtet. Es handelt sich um den Mittelwert aus zehn Probanden für die in Abbildung 36 die Veränderung des Anteils jeder Aminosäure am Gesamtprotein dargestellt ist. Zur besseren Darstellung von Abweichungen von Aminosäuren, die nur gering repräsentiert sind, ist in Abbildung 37 für jede Aminosäure die prozentuale Veränderung gegenüber ihrem Ausgangswert abgebildet. Als Ausgangswert dient der Haarabschnitt, welcher die Wochen 10-12 vor dem Tod widerspiegelt, da davon ausgegangen wird, dass der Grad der Unterernährung hier noch nicht so stark ausgeprägt ist wie unmittelbar vor dem Tod. In Abbildung 38 wird der Verlauf der Aminosäurekonzentration im Keratin in nmol/mg für jede einzelne Aminosäure betrachtet und Abbildung 39 zeigt die Veränderung der Proteinkonzentration im Haar (Summe aller Aminosäurekonzentrationen).

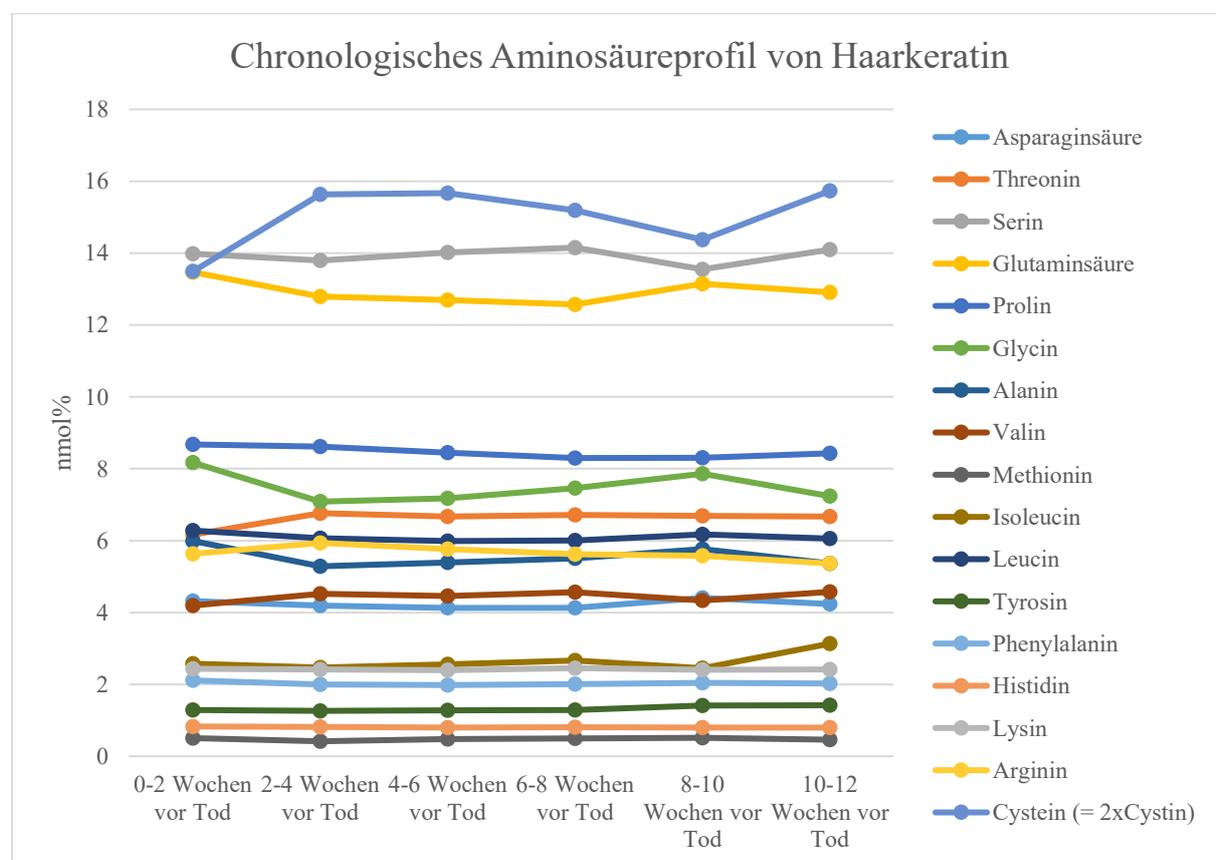


Abbildung 36: Aminosäurezusammensetzung des Haarkeratins in nmol% im zeitlichen Verlauf bei Unterernährung ab drei Monate vor dem Tod (Mittelwert aus zehn Probanden).

In Abbildung 36 sieht man, dass der Anteil von Cystein und Threonin kurz vor dem Tod leicht abfällt, während der Anteil von Alanin und Glycin leicht steigt. Der Anteil von Isoleucin nimmt bereits 10 Wochen vor dem Tod leicht ab.

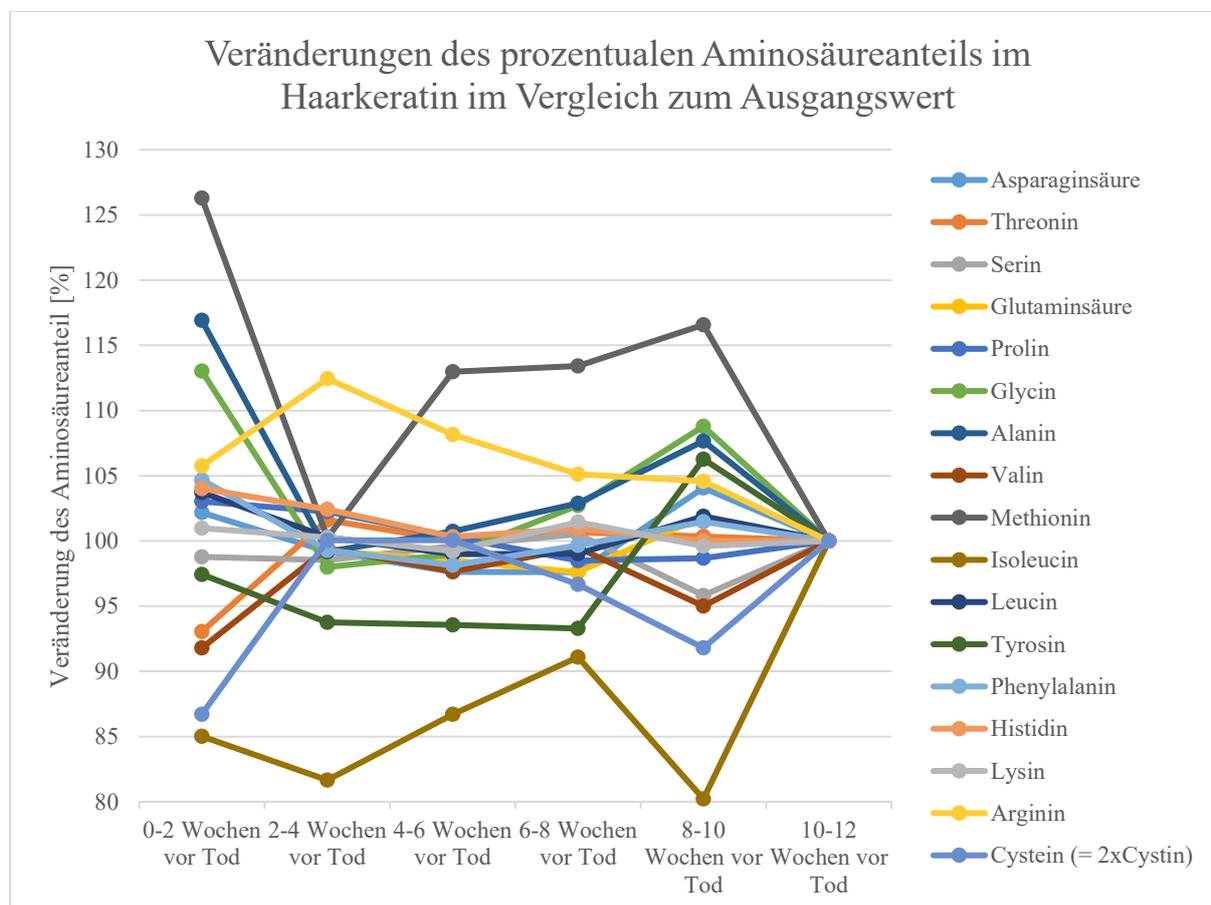


Abbildung 37: Veränderungen im Aminosäureprofil vom definierten Ausgangswert (100 %) drei Monate prä mortal. Dargestellt ist die prozentuale Veränderung vom Ausgangswert aller im Haarkeratin vorhandenen Aminosäuren bei Unterernährung im zeitlichen Verlauf (Mittelwert aus zehn Probanden).

In Abbildung 37 ist zu sehen, dass die meisten Aminosäuren bis maximal 15 % um ihren Ausgangswert schwanken. Isoleucin fällt mit -20 % bereits zehn Wochen vor dem Tod am stärksten ab. Ebenso reduziert sich der Anteil von Tyrosin und Cystein bereits früh, während Threonin und Valin erst unmittelbar vor dem Tod absinken. Ein früher Anstieg und terminaler Abfall ist für Arginin zu verzeichnen. Methionin steigt insgesamt an, mit einem Extremwert zwei bis vier Wochen vor dem Tod. Alanin und Glycin steigen kurz vor dem Tod an.

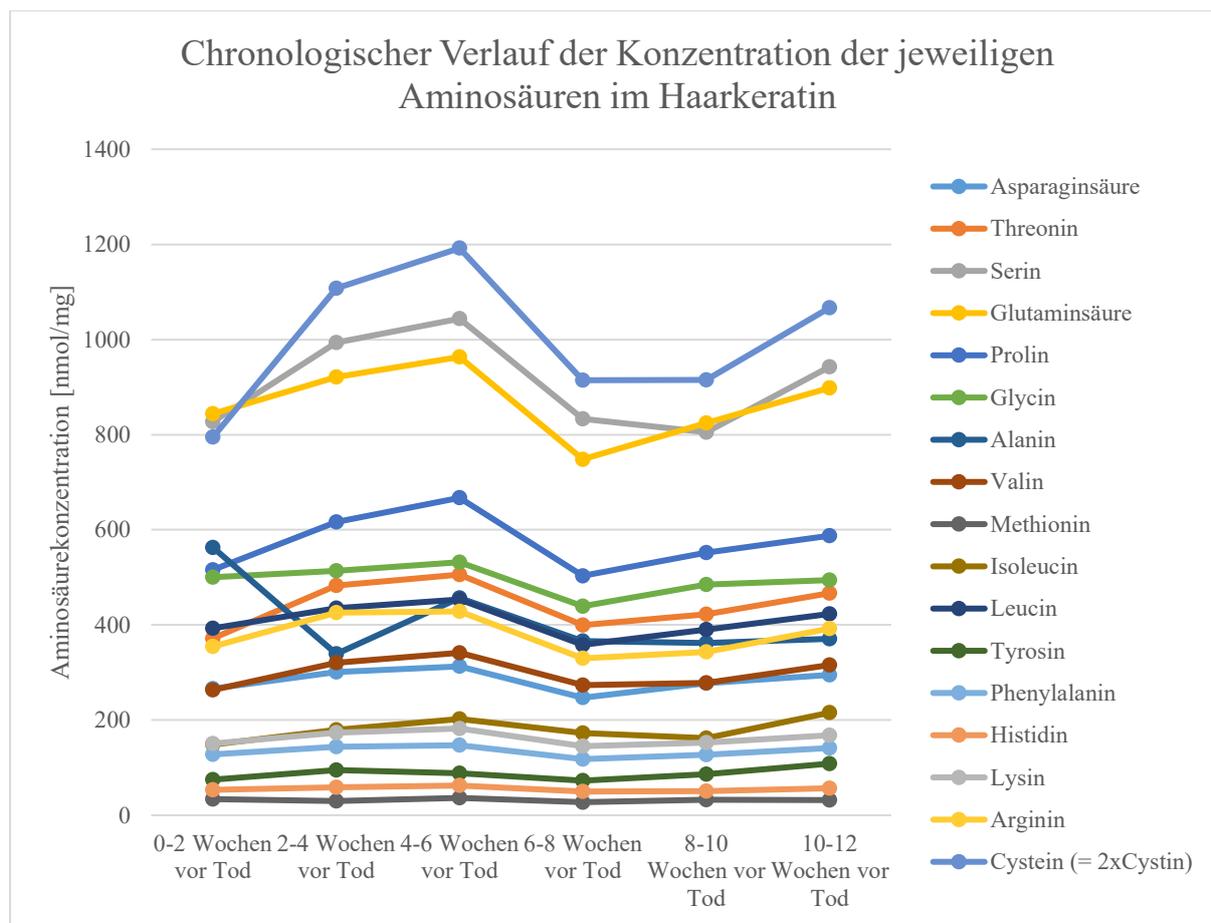


Abbildung 38: Veränderung der Aminosäurekonzentration für jede einzelne Aminosäure in nmol/mg Haarkeratin im zeitlichen Verlauf als Mittelwert aus zehn Probanden mit Unterernährung.

Betrachtet man in Abbildung 38 die Aminosäurekonzentrationen, also die Menge der Aminosäuren in nmol pro mg Haarpulver, so fällt auf, dass diese bei fast allen Aminosäuren von Woche 12 bis 8 vor dem Tod leicht abfallen, 6 bis 4 Wochen vor dem Tod ansteigen und ihr Maximum erreichen, um dann bis kurz vor dem Tod wieder abzufallen. Lediglich bei Alanin steigt die Konzentration kurz vor dem Tod von 339 nmol/mg auf 562 nmol/mg an und übersteigt sogar den Ausgangswert von 371 nmol/mg.

Abbildung 39 zeigt den retrospektiven Verlauf der gesamten Aminosäurekonzentration. Sie wird berechnet durch die Summe aller im Keratin vorkommenden Aminosäuren in nmol pro mg Haarpulver. Der Trend, welcher bereits in Abbildung 38 erkennbar ist, wird hier deutlich. Aufgrund der Fehleraddition jeder einzelnen Aminosäure ist der Gesamtfehler jedoch groß. So schwanken die Konzentration aller Aminosäuren innerhalb der Fehleraddition der Standardabweichungen um den Mittelwert von 6712 nmol/mg. Unter Berücksichtigung der molaren Massen aller analysierten Aminosäuren beträgt deren durchschnittliches Gewicht in einem Milligramm Haar 0,83 mg. Berücksichtigt man weiterhin, dass das Gesamtprotein leichter ist als die Summe der einzelnen Aminosäuren, da bei der Dipeptidbildung ein

Wassermolekül abgespalten wird (18 g/mol), so ergibt sich ein Proteingewicht von 0,71 mg in 1 mg Haar, was einer theoretischen Proteinausbeute von 71 % entspricht.

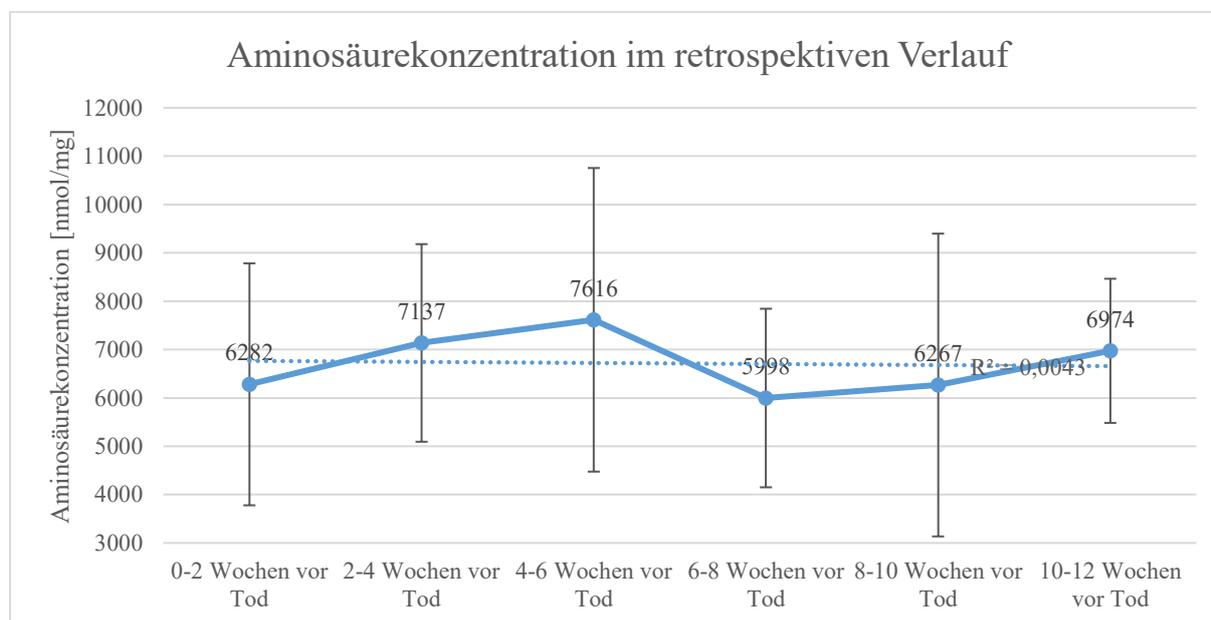


Abbildung 39: Veränderung der Proteinkonzentration im Haar im retrospektiven Verlauf (Mittelwert aus zehn Probanden).

IV.2.2.2 Vergleich der verschiedenen Gewebe

Abbildung 40 zeigt das Aminosäureprofil von Muskelprotein als Mittelwert aus 12 an Unterernährung verstorbenen Probanden. Es wurde ganzes Muskelgewebe analysiert, womit es sich nicht um ein bestimmtes, sondern um alle im Muskel vorkommenden Proteine handelt und damit den Aminosäurepool widerspiegelt. Blut sowie Sehnen wurden jedoch bei der Aufbereitung entfernt. Am häufigsten sind Glycin (14,6 nmol%) und Alanin (11,74 nmol%), während Tryptophan (0,26 nmol%) und Cystein (0,72 nmol%) am seltensten vertreten sind.

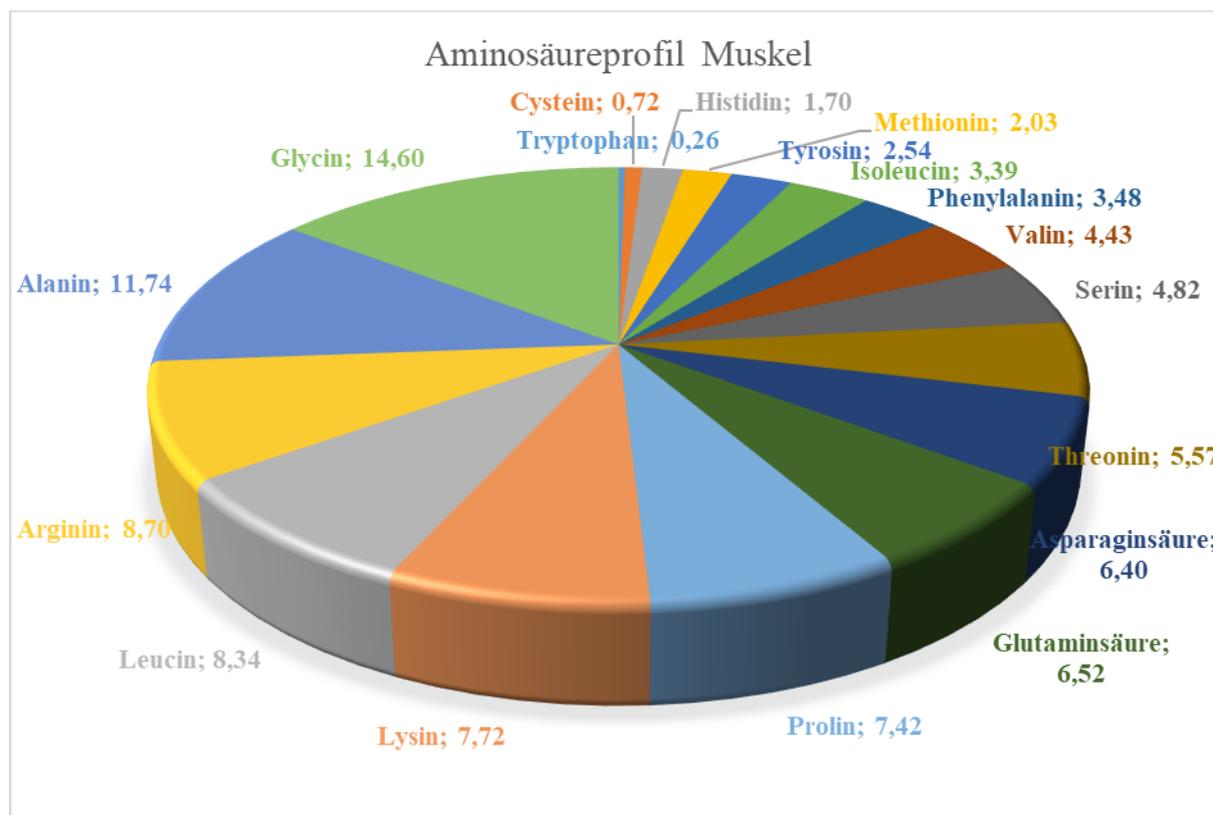


Abbildung 40: Prozentualer Anteil der jeweiligen Aminosäuren am Muskelprotein von unterernährten Probanden (Mittelwert aus zwölf Proben).

Abbildung 41 zeigt das Aminosäureprofil von Knochenkollagen als Mittelwert aus zwölf unterernährten Probanden im Vergleich zum Literaturwert aus Ambrose (1993). Ein Vergleich fällt jedoch schwer, da bei Ambrose (1993) keine Fehlerspanne angegeben ist. Nimmt man daher die zweifache Standardabweichung vom Mittelwert der unterernährten Probanden als Referenz, so fällt auf, dass Alanin mit 15,2 % deutlich erhöht ist, während vor allem die Aminosäuren mit geringem Anteil Methionin, Histidin, Threonin, Valin und Aspartat unterrepräsentiert sind. Bei Ambrose (1993) stellen die essenziellen Aminosäuren 11,8 % des Kollagens, während sie bei den rechtsmedizinischen Probanden lediglich 9,7 % der Aminosäuren des Kollagens ausmachen.

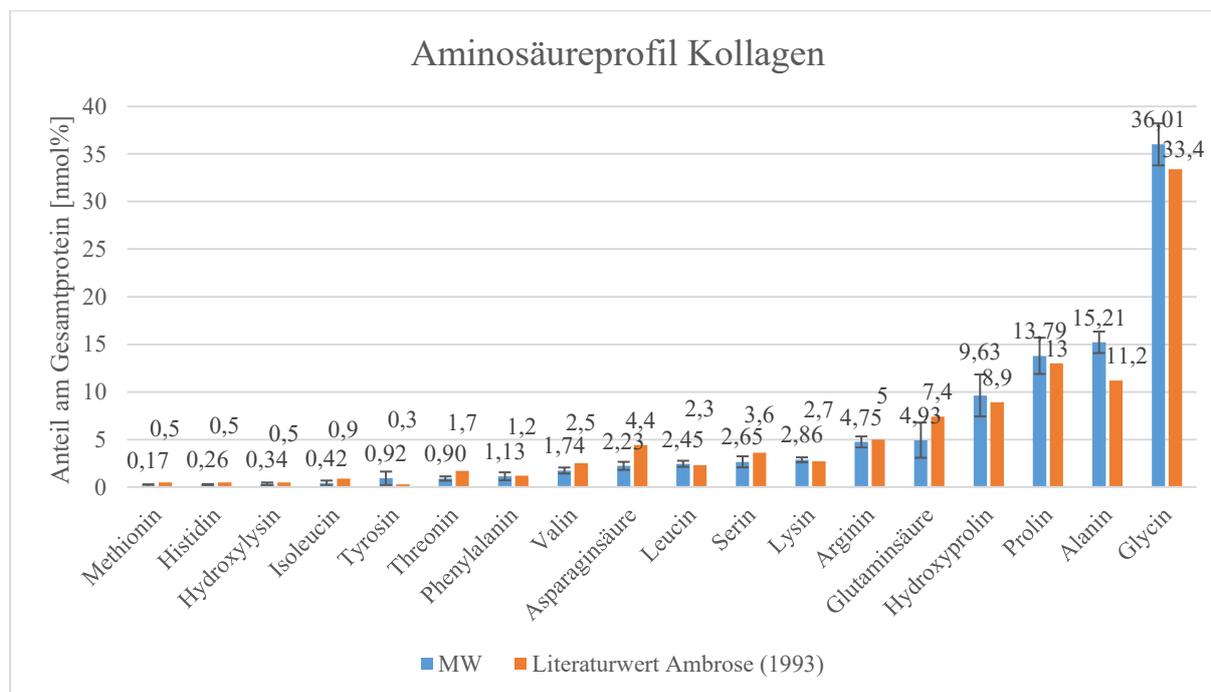


Abbildung 41: Prozentualer Anteil der jeweiligen Aminosäuren am Kollagen von unterernährten Probanden (Mittelwert aus zwölf Proben). Die Fehlerindikatoren entsprechen der Standardabweichung vom jeweiligen Mittelwert. Zudem ist der Literaturwert aus Ambrose (1993) abgebildet (vgl. auch Tabelle 19).

Abbildung 42 stellt die Aminosäureprofile der verschiedenen Gewebeproben gegenüber. Trotz der oben beschriebenen Veränderungen der Aminosäuren im Verlauf der Unterernährung wird sichtbar, dass das Aminosäureprofil des Haares perimortal innerhalb der Standardabweichungen nicht von demjenigen des Haares drei Monate vor dem Tod abweicht. Ebenso verhält es sich bei dem Aminosäureprofil perimortal zu dem internen Laborstandard, also dem Profil normalernährter Probanden. Das Muskelprotein fällt im Vergleich zum Haar bzw. Muskel vor allem durch Erhöhung von Aspartat, Glycin, Alanin, Leucin, Phenylalanin, Histidin, Lysin und Arginin sowie die Erniedrigung von Serin und Glutamat auf. Außerdem kann im Muskel, anders als beim Haar bzw. Kollagen, Tryptophan nachgewiesen werden. Beim Kollagen ist Glycin, welches an jeder dritten Stelle im Protein eingebaut wird (Grupe *et al.* 2015), ebenso wie Prolin und Alanin deutlich erhöht. Außerdem findet sich Hydroxyprolin und Hydroxylysin als Besonderheit im Vergleich zu den Haaren bzw. Muskel.

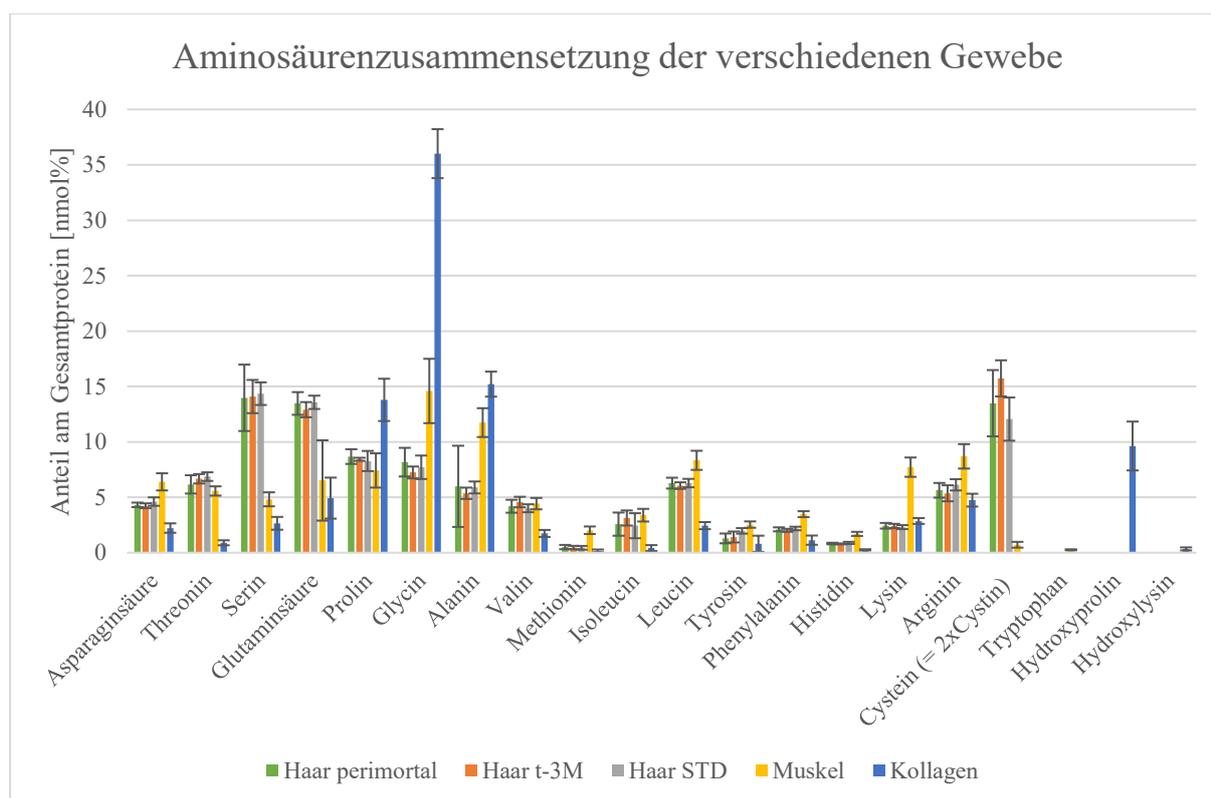


Abbildung 42: Aminosäurezusammensetzung von verschiedenen Gewebeproteinen von unterernährten Probanden. Die Fehlerindikatoren entsprechen den jeweiligen Standardabweichungen der Mittelwerte aus zwölf unterernährten Probanden (siehe auch Tabelle 19). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod, Haar STD entspricht dem interner Haarstandard von normalernährten Personen.

IV.3 Genetischer Einfluss

Die Ergebnisse der Zwillingstudie, welche von Lisa Benda im Rahmen ihrer Masterarbeit durchgeführt wurde, sind in Abbildung 43 als Boxplots dargestellt. Die zugrunde liegenden Daten finden sich in Tabelle 22 im Anhang. Bis auf jeweils einen Zwilling des monozygoten Paares 7 ($\delta^{13}\text{C} = -22,26 \text{ ‰}$), 8 ($\delta^{15}\text{N} = 10,66 \text{ ‰}$) bzw. jeweils einen Zwilling des dizygoten Paares 3 ($\delta^{15}\text{N} = 10,64 \text{ ‰}$) und 18 ($\delta^{15}\text{N} = 10,69 \text{ ‰}$) sind die Isotopenwerte, bezüglich der Daten von O'Connell und Hedges (1999a) und Petzke *et al.* (2005a), im Bereich normalernährter Personen. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte liegen zwischen 9,09 ‰ und 10,69 ‰ und die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte liegen zwischen -21,58 ‰ und -20,32 ‰.

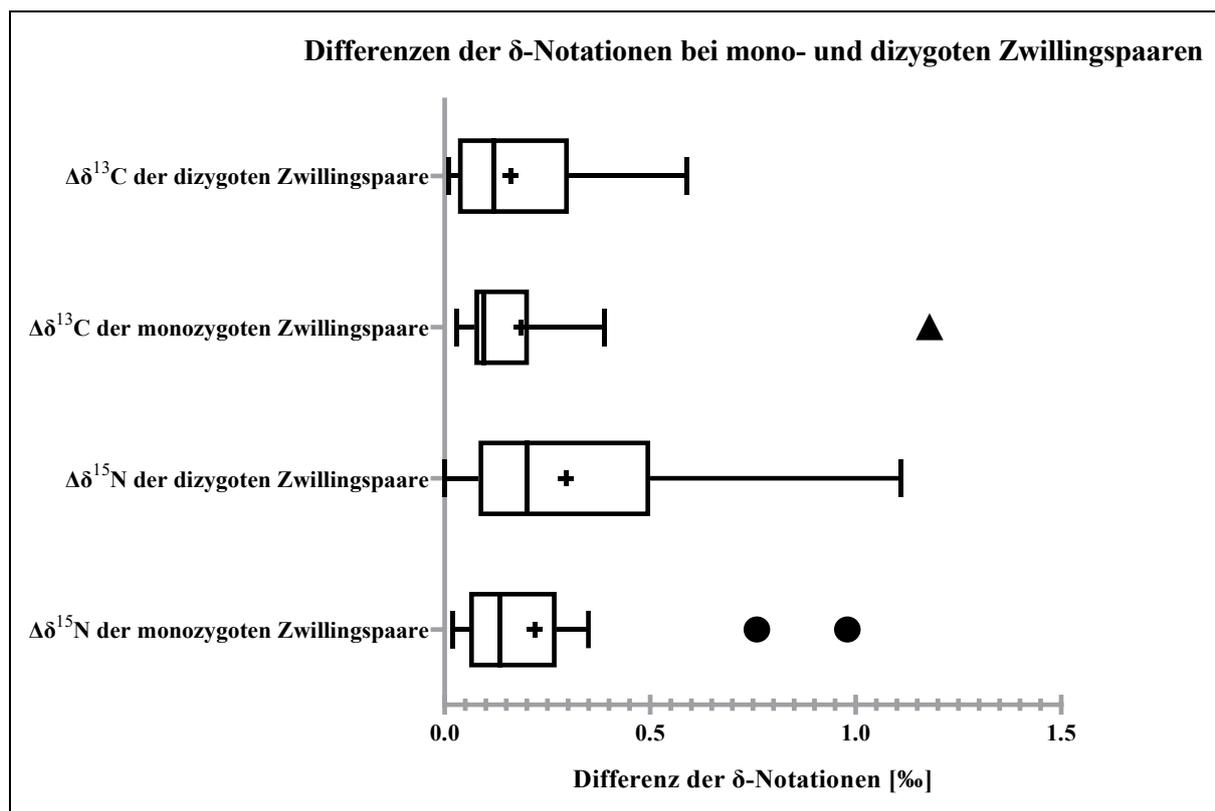


Abbildung 43: Boxplots (Tukey, Mittelwert “+“) der jeweiligen Differenzen (Δ) zwischen den δ -Notationen für Stickstoff und Kohlenstoff von mono- bzw. dizygoten Zwillingspaaren.

Die Isotopenwerte für Kohlenstoff unterscheiden sich bei den monozygoten Zwillingspaaren im Durchschnitt um 0,19 ‰ (SD 0,25 ‰) und bei den dizygoten um 0,16 ‰ (SD 0,15 ‰), der Messfehler des Massenspektrometers ist 0,1 ‰. Bis auf den Wert des monozygoten Zwillingspaars 7 ($\Delta\delta^{13}\text{C}=1,18$ ‰), welcher als Extremwert zu betrachten ist, liegen die Zwillingspaare also bezüglich der Kohlenstoffisotope eng zusammen.

Bei den Stickstoff-Isotopenwerten liegen die monozygoten Zwillingspaare im Durchschnitt 0,22 ‰ (SD 0,25 ‰) und die dizygoten 0,30 ‰ (SD 0,28 ‰) auseinander. Die Messungenauigkeit des Massenspektrometers beträgt für Stickstoffisotope 0,08 ‰. Die monozygoten Zwillingspaare 2 ($\Delta\delta^{15}\text{N}=0,76$ ‰) und 10 ($\Delta\delta^{15}\text{N}=0,98$ ‰) stellen Extremwerte dar. Für das monozygote Zwillingspaar 10 ist dies über das molare C/N-Verhältnis erklärbar, welches für Zwilling 2 (C/N=1,51) außerhalb des tolerablen Bereichs von 2,9-3,8 liegt (O'Connell & Hedges 1999a). Alle weiteren Werte befinden sich innerhalb der Standardabweichung im Normbereich.

Ein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten von mono- und dizygoten Zwillingspaaren sowohl für Stickstoff als auch für Kohlenstoff besteht nicht. Da die Werte nicht normalverteilt sind (Kolmogorov-Smirnov-Test), wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test

angewandt ($P=0,39$ für Kohlenstoff bzw. $P=0,19$ für Stickstoff). Aufgrund der Fragestellung, ob die Δ -Werte der monozygoten Paare kleiner sind, als diejenigen der dizygoten Paare, wurde einseitig getestet.

Die Δ -Werte der monozygoten Zwillingspaare sind etwas kleiner als jene der dizygoten. Dieser Trend ist jedoch, wie vorhergehend beschrieben, nicht signifikant. Die Boxplots in Abbildung 43 weisen ebenfalls auf nicht normalverteilte Werte hin und zeigen an, dass die Δ -Werte der dizygoten Zwillingspaare etwas breiter gestreut sind als die der monozygoten.

V DISKUSSION

V.1 Methodische Verbesserungen

V.1.1 Probenvorbereitung

V.1.1.1 Probenentnahme

Die korrekte Probenvorbereitung hängt stark von der konkreten Fragestellung ab, welche zu Beginn jeder Untersuchung geklärt werden sollte. Interessiert man sich beispielsweise lediglich für die Nahrungszusammensetzung einer Person in den letzten Monaten vor Probenentnahme bzw. vor dem Tod (z. B. bei archäologischen Funden), ist es ausreichend, die Haare als Ganzes zu analysieren, wie dies bei der Zwillingsstudie (vgl. Kapitel III.2.1.2) gemacht wurde. Über den Vergleich der Isotopenwerte mit Geweben, die eine längere Umbaurate haben (z. B. Knochen), können beispielsweise längerfristige Unterschiede detektiert werden. Der Vorteil ist, dass die Analyse schnell durchführbar ist und an die Probenentnahme keine besonderen Ansprüche gestellt werden müssen. Es ist also nicht nötig, Haare mit Wurzeln zu asservieren oder die Wuchsrichtung zu bestimmen. Es reicht aus, Haare mit einer Schere abzuschneiden oder ausgefallene Haare zu sammeln. Der Nachteil ist eine beschränkte Aussagekraft der Ergebnisse. Möchte man nämlich den zeitlichen Verlauf der Ernährung wissen, muss sichergestellt werden, dass die analysierten Abschnitte der einzelnen Haare einer Strähne zur selben Zeit synthetisiert wurden. Eine grobe Näherung wird erreicht, indem man, wie bei der Vorgängerstudie von Neuberger (2013), die Haare kurz über der Kopfhaut als Strähne abschneidet und zusammenbindet. Ist die Wuchsrichtung nicht bekannt, wie es bei einigen Strähnen aus Hall in Tirol der Fall war, kann sie mithilfe der Abdruckmethode einfach überprüft werden (Trüeb 2003). Der Vorteil des Abschneidens ist, dass dies nicht schmerzhaft ist und damit die Bereitschaft der Probanden höher ist. Jedoch sind die einzelnen Abschnitte nicht exakt zur selben Zeit synthetisiert worden, da die Haare unterschiedlich tief in der Epidermis liegen (ca. 3-4 mm laut Harkey (1993)) und auch nicht wachsende Haare in der Strähne enthalten sind.

Bei gesunden Individuen mit einem hohen Anagenhaar-Anteil fällt dies nicht stark ins Gewicht, jedoch kann der Anteil nicht wachsender Haare auf bis zu 60 % ansteigen, wie dies z. B. bei rHP 3 der Fall war (vgl. Kapitel IV.1.1). Dies würde bei einer abgeschnittenen Haarsträhne zu einem starken Dämpfungseffekt führen, der Nahrungsumstellungen kaschiert. Ist die Wurzel zudem nicht erhalten, kann der Ernährungsverlauf nur relativ angegeben werden und nicht mit einem exakten Datum (z. B. Todestag oder Probenentnahme) korreliert werden. Im Idealfall sollte man zudem die Wachstumsgeschwindigkeit kennen, um die zu analysierende Abschnittslänge einem genauen Zeitraum, in welchem das Haar synthetisiert wurde, zuzuordnen. Goldstandard wäre bei diesen Überlegungen ein modifiziertes Phototrichogramm, welches erstmals durch Saitoh *et al.* (1970) beschrieben wurde. In einer abgewandelten Form könnte man ein ca. 0,5 cm² großes Areal auf der Kopfhaut im Bereich der *Protuberantia occipitales* abrasieren und die Stelle markieren. Die Anzahl der Haare pro Fläche entspricht der Haardichte. Die Haare werden als Strähne aufbewahrt. Nach einer Woche kann man die nachgewachsenen Haare an derselben Stelle erneut abrasieren und nun die Stoppeln zählen sowie deren Länge messen. So erhält man einerseits die genaue Wachstumsgeschwindigkeit in Millimeter/Woche, zum anderen kann man den Anteil wachsender Haare errechnen, indem man die nachgewachsenen Haare durch die Haare der zuerst abrasierten Strähne teilt. Für Studienzwecke bietet sich die hier vorgestellte Methode an und könnte beispielsweise im Rahmen einer zukünftigen Fastenstudie oder bei *Anorexia nervosa* Patienten analog der Studien von Neuberger (2013) und Mekota *et al.* (2006) durchgeführt werden. Bei historischen oder forensischen Fragestellungen, also der Haaranalyse von Verstorbenen, ist diese Methode nicht anwendbar. Die Wachstumsgeschwindigkeit kann post-mortem nicht mehr bestimmt werden. Betrachtet man die Ergebnisse dieser Arbeit, wird jedoch klar, dass es zur Generierung valider und reproduzierbarer Ergebnisse unerlässlich ist, die Haarsträhnen mit Wurzeln zu untersuchen.

Bei der Epilation der Haare sind 16 % (für gewöhnlich <10 %) der Haare abgebrochen. Bei Haaren von lebenden Probanden könnte dies für eine zu langsame Epiliermethode sprechen, was auch einen erhöhten Anteil von dysplastischen Haaren verursachen kann und zu einer eingeschränkten Beurteilbarkeit des Trichogramms führen würde (Maguire Jr. & Kligman 1964; Raab 2012a). Die Versuche von Maguire Jr. und Kligman (1964) haben jedoch ebenfalls ergeben, dass dies für dysplastische Haare von Kadavern nicht gilt. Die vermehrten abgebrochenen Haare sind demnach auf eine verringerte Reißfestigkeit des Haarschafts bei teilweiser Austrocknung des Gewebes der rechtsmedizinischen Haarproben zurückzuführen. Das **Trichogramm** ergab bei den 16 untersuchten unterernährten Personen einen durchschnittlichen Anagenhaar-Anteil von 55 %, der deutlich unter dem Wert gesunder

Personen (ca. 85 %) liegt. Dies erklärt die Schwierigkeiten der Vorgängerstudie von Neuberger (2013), reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, da von den nicht wachsenden Haaren, welche einen bis zu drei Monaten zurückliegenden Isotopenwert repräsentieren, ein Dämpfungseffekt ausgeht. Die Katagenhaare und dystrophischen Haare deuten zudem an, dass die Einstellung des Wachstums kurz vor dem Tod (bis zu zwei Wochen) erfolgte (Trüb 2003). Hiermit wird klar, warum vor allem der massive Anstieg in den letzten beiden Wochen vor dem Tod mit unsortierten Haarsträhnen nicht so ausgeprägt detektiert werden kann und die signifikante Änderung, die im Rahmen dieser Arbeit zwischen den Anagen- und unsortierten Haarsträhnen festgestellt wurde (vgl. Kapitel IV.1.3.1), nur für diesen Abschnitt gilt.

Bei der **Reproduzierbarkeit** der Ergebnisse spielen verschiedene Faktoren eine Rolle. Zum einen muss bedacht werden, dass jedes Haar unabhängig voneinander wächst und damit die Isotopenwerte nicht identisch sein müssen. Weiterhin sind vor allem bei abgeschnittenen Haaren die Schwankungen durch die Follikeltiefe zu berücksichtigen. Bei unsortierten Haaren spielt die Anzahl nicht wachsender Haare, wie oben beschrieben, eine wichtige Rolle. Betrachtet man den Durchschnittswert der zwei Messreihen Anagen 1+2 der 13 Probanden, wurden alle Werte innerhalb der Messgenauigkeit des Massenspektrometers reproduziert (vgl. Kapitel IV.1.3.2). Es zeigen sich jedoch größere Schwankungen, je weiter entfernt der Abschnitt zur Wurzel liegt. Dies ist durch methodische Limitationen bedingt. Selbst durch den geübten Untersucher können die Haarwurzeln lediglich mit Schwankungen bis zu 0,1 mm auf eine Kante justiert werden (vgl. Abbildung 12). Gerade bei krausem Haar wird die Zuordnung der Abschnitte Richtung Haarspitze zunehmend erschwert und damit die Reproduzierbarkeit geringer. Exakte zeitliche Zuordnungen lange zurückliegender Haarabschnitte (mehr als 3 Monate) sollten daher mit Vorsicht erfolgen. Bei den individuellen Werten der einzelnen Probanden gibt es zwischen den zwei Messungen durchaus Unterschiede, die größer als die Messfehler sind (vgl. Tabelle 17 und Tabelle 18). Dies ist auf die oben genannten Unsicherheiten zurückzuführen. Insgesamt kann festgehalten werden, dass diese Störfaktoren am besten durch eine große Haarsträhne, ausreichend große Abschnitte und mehreren Wiederholungsmessungen eliminiert werden können. Dabei spielt auch die Fragestellung eine wichtige Rolle. Für diese Studie hat sich bei der Analyse von reinen Anagenhaarsträhnen eine Anzahl von 50 Haaren bei einer Abschnittslänge von 5 mm bewährt. Wenn eine höhere zeitliche Auflösung nötig ist, z. B. bei forensischen Fragestellungen, sollten mehrere Haare analysiert werden und vor allem mehrere Wiederholungsmessungen erfolgen. Dies gilt insbesondere, wenn keine Haarwurzeln zur Verfügung stehen und somit kein Trichogramm ausgewertet werden kann.

V.1.1.2 Probenaufbereitung

Um die optimale Probenvorbereitung herauszufinden, wurden verschiedene Waschschriffe getestet. Zur Ernährungsrekonstruktion durch Haare sollte im Idealfall reines Protein analysiert werden. Wie einleitend beschrieben, besteht ein trockenes Haar aus bis zu 95 % Protein. Die Mineralstoffe (<1 %) sind für die Analyse von Stickstoff und Kohlenstoff irrelevant, da sie bei der Messung nicht erfasst werden. Relevant sind zum einen die 1-9 % Lipide (Harkey 1993) sowie die exogenen Verunreinigungen in Form von Haarpflegemitteln oder Staub aus der Umgebung, welche durch den Waschschriff entfernt werden sollten. Im Idealfall werden diese Stoffe herausgewaschen, sodass der Proteinanteil mit über 95 % das wesentliche Analysat darstellt. Makroskopische Verunreinigungen, insbesondere bei historischen Proben, können mit destilliertem Wasser im Ultraschallbad entfernt werden (Taylor *et al.* 1995). Im forensischen Kontext, bei der Analyse von Spurenelementen, gibt es Hinweise, dass das Ultraschallbad zu Strukturschäden im Haar führt, welche jedoch durch zwischengeschaltete Methanol-Waschschriffe minimiert werden können (Pozebon *et al.* 2017). Für die Analyse stabiler Isotope ist dies jedoch nicht relevant, da mögliche Auswirkungen lediglich bei der Spurenelementanalyse diskutiert werden. Um die exogenen Fette zu entfernen, wird in den meisten Studien eine Chloroform-Methanol-Lösung verwendet (Mekota *et al.* 2009; Neuberger *et al.* 2013; O'Connell & Hedges 1999a, 1999b). Über die Volumenverhältnisse und Einwirkzeiten werden in der Literatur jedoch unterschiedliche Angaben gemacht.

Die Ergebnisse in Abbildung 17 zeigen erwartungsgemäß, dass der Waschschriff auf den $\delta^{15}\text{N}$ -Wert keinen Einfluss hat, da im zu entfernenden Fett kaum Stickstoff vorhanden ist. Dementsprechend bewegen sich die Werte aller Waschschriffe innerhalb der Standardabweichung für den ungewaschenen Standard. Beim $\delta^{13}\text{C}$ -Wert hingegen sieht man einen Effekt durch den Waschschriff. Dies ist auch im Einklang mit den Ergebnissen von Yoshinaga *et al.* (1996). Da Fett einen niedrigeren $\delta^{13}\text{C}$ -Wert als Keratin hat (vgl. Abbildung 33) und durch den Waschschriff das exogene Fett entfernt wird, steigt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert mit zunehmender Einwirkzeit an (vgl. Abbildung 18). Es ist davon auszugehen, dass nach 90 Minuten das exogene Fett komplett vom Haar gelöst ist, da der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert nicht mehr positiver wird. Dabei scheint ein Volumenverhältnis von 1:2 (Chloroform:Methanol) ausreichend zu sein, da sich die Werte mit höher konzentriertem Chloroform innerhalb der Standardabweichung gleichen. Dennoch wird das Volumenverhältnis mit geringerem Chloroform empfohlen, da sich bei der Aminosäureanalyse zeigte, dass beim Waschschriff im Vergleich zum ungewaschenen Standard einige keratinfremde Substanzen nachgewiesen werden. Diese könnten, wie auch Pozebon *et al.* (2017) und Krippner (2015) vermuten, durch

strukturelle Veränderungen am Haar durch den Waschschrift erklärbar sein. Deshalb wird als schonendster Waschschrift, der trotzdem alles exogene Fett entfernt, eine Einwirkzeit von 90 Minuten mit einem Chloroform:Methanol 1:2 Volumenverhältnis empfohlen. Da Chloroform leicht flüchtig ist, sollte die Waschlösung, welche das Haar vollständig bedecken sollte, nach 45 Minuten erneuert werden. Dass der Waschschrift für die Analyse der stabilen Isotope von Kohlenstoff unverzichtbar ist, zeigt der hochsignifikante Unterschied ($P=0,0005$) der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen gewaschenem (- 20,98 ‰) und ungewaschenem Standard (- 21,31 ‰). Ebenso zeigt das molare C/N-Verhältnis, welches beim ungewaschenem Standard 3,7 beträgt, dass hier mehr Kohlenstoff (Fett) enthalten ist als beim gewaschenem Standard mit einem molaren C/N-Verhältnis von 3,47, welches nahe am theoretischen C/N-Verhältnis (3,4) von Keratin liegt (O'Connell & Hedges 1999a). Die geringe Erhöhung gegenüber dem theoretischen Wert liegt vermutlich an den internen Lipiden bzw. sonstigen Zellbestandteilen und Proteinen im Haar.

Insgesamt gilt bezüglich des Waschschrifts, dass die Fragestellung einen wichtigen Einfluss auf die Probenvorbereitung hat. Wenn beispielsweise nur die Aminosäurezusammensetzung analysiert werden soll, kann auf die Waschlösung gänzlich verzichtet und das Haar nur mit destilliertem Wasser im Ultraschallbad behandelt werden, da das exogene Fett ohnehin nicht detektiert wird.

V.1.2 Qualitätskriterien

V.1.2.1 Isotopenanalysen an Haaren

Da es bei der Vorgängerstudie von Neuberger (2013) gerade im Hinblick auf die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte Unsicherheiten durch Schwankungen und fehlende Reproduzierbarkeit gab und dies im forensischen Kontext die Interpretation der Ergebnisse erschwerte, wurde in der vorliegenden Arbeit ein Augenmerk auf mögliche Fehlerquellen gelegt und versucht abzuschätzen, ab welcher Änderung der Isotopenwerte nicht mehr von Messungenauigkeit sondern von einer veränderten Ernährung auszugehen ist. Mithilfe des Haarstandards konnte gezeigt werden, dass eine Fehlerquelle durch den Waschschrift nahezu ausgeschlossen werden kann. Die Standardabweichung für $\delta^{13}\text{C}$ des gewaschenen Standards entspricht mit 0,08 ‰ nahezu der Messungenauigkeit des Massenspektrometers von 0,06 ‰ (vgl. Abbildung 19). Für den $\delta^{15}\text{N}$ -Wert ist sie mit 0,21 ‰ jedoch etwas höher als die Messungenauigkeit (0,08 ‰). Insbesondere der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des internen Laborstandards eignet sich daher, um den Erfolg des Waschschrifts künftiger Messungen zu überprüfen. Befindet er sich innerhalb der zweifachen

Standardabweichung, kann davon ausgegangen werden, dass die externen Lipide erfolgreich entfernt wurden und der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Probe dem der inkorporierten Nahrung entspricht.

Eine weitere Fehlerquelle, vor allem bei historischen Proben, stellt die Integrität des Keratins dar. Insbesondere Haare nach Erdbestattung können durch biologische, physikalische und chemische Einflüsse verändert sein. Eine erste Orientierung bietet das molare C/N-Verhältnis, welches laut O'Connell und Hedges (1999a) zwischen 2,9 und 3,8 liegen sollte. Die Autoren führen jedoch zurecht an, dass auch ein normwertiges C/N-Verhältnis keine Garantie für intaktes Kollagen bietet. Beispielsweise könnte die Verunreinigung ein ähnliches C/N-Verhältnis haben, oder die Kohlenstoff- und die Aminogruppe des Proteins gleichermaßen betroffen sein. Daher ist zur Einschätzung der Validität des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts die Aminosäureanalyse, welche im folgenden Kapitel behandelt wird, als zweites Kriterium besser geeignet. Ein drittes Qualitätskriterium stellt die histologische Begutachtung des Haares unter dem Mikroskop dar. So können anhaftendes Fremdmaterial, Mikroorganismen oder veränderte anatomische Strukturen, wie eine defekte Kutikula, auf eine Affektion der Probe hinweisen.

Eine Herausforderung bei der Interpretation von Isotopenwerten einer Haarsträhne zur Ernährungsrekonstruktion ist, zu entscheiden, ab wann zwei verschiedene δ -Werte nicht mehr durch Messunsicherheit zu erklären sind, sondern von einer veränderten Ernährung auszugehen ist. Betrachtet man die Ergebnisse dieser Arbeit, kann man die Standardabweichung des Haarstandards als zufälligen Fehler betrachten, der durch die Probenaufbereitung determiniert ist. Die Standardabweichung der Reproduktionsmessungen entspricht der Fehleraddition, die durch den zufälligen Fehler und den systematischen Fehler, der durch die Erfahrung des Untersuchers beim Justieren der Haare limitiert ist, zustande kommt (Gaus & Muehe 2013; Ritschl *et al.* 2016). Betrachtet man also die Standardabweichung der Unterschiede zwischen den Messreihen der Reproduktionsmessungen (0,3 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$ und 0,29 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$) so kann davon ausgegangen werden, dass zwei Werte eines Individuums dann als durch die Ernährungsumstellung bedingt angenommen werden können, wenn sie 0,6 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$ bzw. 0,58 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$ voneinander abweichen. Wenn der δ -Wert also im Verlauf um mindestens 0,6 ‰ ansteigt, ist von einer Unterernährung auszugehen, da dies nicht mehr auf systematische Fehler zurückzuführen ist.

V.1.2.2 Aminosäureanalysen an Haaren

Wie oben bereits erwähnt, kann mit der Aminosäureanalyse die Integrität des Keratins beurteilt werden. Nach dem Waschschrift muss jedoch noch eine Hydrolyse der Probe erfolgen, um das Protein in die einzelnen Aminosäuren zu spalten. Hierfür wurden verschiedene Methoden

getestet. In Abbildung 24 ist zu sehen, dass vor allem starke Säuren und eine längere Einwirkzeit eine bessere Ausbeute gewährleisten. Dies ist vermutlich darin begründet, dass schwache Säuren oder zu kurze Einwirkzeiten zu einer unvollständigen Hydrolyse führen. Selbst makroskopisch konnte beobachtet werden, dass bei 6 M HCl nicht alle Haarfragmente aufgelöst wurden. Somit ist eine Konzentrationsbestimmung der Aminosäuren in nmol pro mg Haar nicht aussagekräftig, da sie bei unvollständiger Hydrolyse des Proteins, z. B. als Poly- oder Dipeptide, einem quantitativen Nachweis durch die hier eingesetzte HPLC-Methode entgehen. Krippner (2015) diskutiert in ihrer Arbeit ausführlich die Vor- und Nachteile der verschiedenen Hydrolyseverfahren, auch bezüglich der Bestimmung verschiedener Aminosäuren, und kommt zu dem Schluss, dass die Hydrolyse mit 12 M HCl die geeignetste Methode darstellt, da sie neben 10 M MSA die höchste Aminosäureausbeute liefert und mit dem Literaturwert von Yu *et al.* (1993) die meisten Übereinstimmungen aufweist. Im Gegensatz zur 10 M MSA bietet sie jedoch stabilere Ergebnisse und keine unbekannt Peaks, die vermutlich auf eine unvollständige Hydrolyse bei 10 M MSA zurückzuführen sind. Die geringen Artefakte bei der Hydrolyse mit 12 M HCl sprechen ebenfalls für die Qualität der Hydrolyse. Ein weiterer Punkt für die Hydrolyse mittels 12 M HCl ist die bessere Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen der Vorgängerstudie von Neuberger (2013).

Um die Qualität einer Aminosäureanalyse beurteilen zu können, wurde von Krippner (2015) ein interner Laborstandard etabliert, der in Abbildung 28 visualisiert, bzw. in Tabelle 19 im Anhang zu finden ist. Bei jedem Probenlauf wurde 1 mg des Haarpulvers als interner Standard mitanalysiert. Ein Probenlauf gilt als valide, wenn sich beim mitanalysierten Haarpulver die Werte von zwei der drei Aminosäuren Asparaginsäure, Valin und Lysin innerhalb der zweifachen Standardabweichung des internen Laborstandards befinden. Krippner (2015) wählte diese drei Aminosäuren, weil sie bei den 38 Messungen unter denjenigen Aminosäuren, welche eine Normalverteilung (Shapiro-Wilk-Test) aufweisen, die geringste Standardabweichung haben und somit die stabilsten Ergebnisse liefern. Zudem haben sie, anders als z. B. Methionin und Histidin, einen genügend großen Anteil am Gesamtprotein, um mögliche Extremwerte detektieren zu können. Alle in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Messreihen erfüllten die Kriterien des mitanalysierten internen Laborstandards.

Neben der Qualitätskontrolle der Hydrolyse kann der Haarstandard aber auch dazu verwendet werden, die Integrität des Keratins einer Probe zu beurteilen, da er die Aminosäurezusammensetzung des Keratins eines (wenn auch kleinen und nicht repräsentativen) Querschnitts der Bevölkerung abbildet (vgl. Kapitel III.1.4) und die chemische

Struktur des Keratins laut Tobin (2006) bei nahezu allen Menschen identisch ist. Die nmol%-Werte der einzelnen Aminosäuren beeinflussen sich gegenseitig, da bei prozentualer Erniedrigung einer Aminosäure die Werte der Übrigen ansteigen. Daher wird vorgeschlagen, als praktikable Methode, größere Veränderungen in der Aminosäurezusammensetzung einer Haarprobe zu detektieren, davon auszugehen, dass Proben als nicht mehr valide angesehen werden, welche stärker als die zweifache Standardabweichung bei allen drei oben genannten, relativ stabilen Aminosäuren Asparagin, Valin und Lysin des Haarstandards abweichen. Weiterhin sollten die Aminosäuresignaturen der Proben dem des Standards gegenüber gestellt werden und beispielsweise mittels Box-Whisker-Plots nach Extremwerten gesucht werden, wie dies bei Benda (2015) für die Zwillingshaare geschehen ist. Ergänzend zum molaren C/N-Verhältnis können somit Proben, die sich stark von den Werten des intakten Keratins unterscheiden, aussortiert werden.

V.2 Veränderungen bei Unterernährung

Wie bereits erwähnt, kann das Verhungern aus ethischen Gründen experimentell nicht untersucht werden. Es handelt sich daher bei den folgenden Ausführungen um eine Rekonstruktion des Hungerstoffwechsels durch die retrospektive Haaranalyse von an Unterernährung verstorbenen Personen.

V.2.1 Wachstum

Wie in Abbildung 16 visualisiert, ist das Verhältnis zwischen Anagenhaaren (55 %) und nicht wachsenden bzw. geschädigten Haaren (45 %) deutlich abweichend von dem gesunder Personen (Wolff 2017). Betrachtet man das Trichogramm näher, fällt auf, dass der Telogenhaar-Anteil mit durchschnittlich 14 % im Bereich von gesunden Personen liegt (Raab 2012a). Deutlich erhöht ist jedoch der Katagenhaar-Anteil mit 23 %, der nicht höher als 3 % liegen sollte. Dies gilt auch für den Anteil dystrophischer Haare (8 %), der nicht mehr als 2 % betragen sollte. Der erhöhte Katagenhaar-Anteil deutet auf eine leichte Schädigung hin, während die dystrophischen Haare für eine starke Schädigung durch physiologischen Stress und ein anagenes, dystrophisches Effluvium sprechen (Raab 2012a; Trüeb 2003). Die Kombination könnte dadurch erklärt werden, dass durch die Unterernährung zunächst ein moderater physiologischer Stress herrscht, der dazu führt, dass die Haare vermehrt das Wachstum einstellen (Katagen) und unmittelbar vor dem Tod durch die Stoffwechselentgleisung eine starke Schädigung zur Bildung dystrophischer Haare führt.

Da bei Unterernährung im Mittel nur 55 % der Haare zum Zeitpunkt des Todes in der Anagenphase sind, ist eine genaue zeitliche Auflösung für die Isotopenanalysen bei unsortierten Haarsträhnen nicht möglich. Die nicht wachsenden Haare (45 %) können den Anstieg der δ -Werte dämpfen und Trendentwicklungen daher kaschieren. Da der Telogenhaar-Anteil jedoch relativ normal ist und Katagen- und Telogenhaare vermehrt auftreten, bedeutet dies, dass das Haar in den letzten Wochen vor dem Tod geschädigt wird. Der Katagenhaar-Anteil repräsentiert einen ca. zwei Wochen zurückliegenden Isotopenwert, der Anteil der dystrophischen Haare einen ca. eine Woche zurückliegenden Isotopenwert. Dies erklärt warum nur der Abschnitt 0-2 Wochen vor dem Tod einen signifikanten Unterschied zwischen den $\delta^{15}\text{N}$ -Werten zeigt und die übrigen Abschnitte nicht (vgl. Kapitel IV.1.3.1). Die perimortale Stoffwechselentgleisung und der damit verbundene starke Anstieg wird durch die 8 % dystrophischen Haare zusammen mit den 23 % Katagenhaaren nicht mehr abgebildet. Bei dem Abschnitt 2-4 Wochen vor dem Tod dämpfen bei den unsortierten Haaren lediglich die 14 % Telogenhaare und vermutlich ein geringerer Prozentsatz an Katagenhaaren den Isotopenwert. Daher fällt der Unterschied zwischen Anagenhaarsträhne und unsortierter Strähne nicht so stark und damit nicht signifikant aus. Die Werte 8-12 Wochen vor dem Tod sind bei den unsortierten und den Anagenhaarsträhnen nahezu identisch. Dies bedeutet, dass die Unterernährung erst ca. zwei Monate vor dem Tod einsetzt, andernfalls würden die Telogenhaare in der unsortierten Strähne den Isotopenwert dämpfen, da sie einen bis zu drei Monate zurückliegenden Wert repräsentieren. Hier entspricht jedoch der Isotopenwert der Telogenhaare demjenigen der Anagenhaare.

Der Isotopenwert 0-2 Wochen vor dem Tod einer unsortierten Haarsträhne lässt sich demnach durch folgende Formel berechnen:

$$\delta X_{0-2 \text{ unsortiert}} = (0,55 \times \delta X_{0-2 \text{ Anagen}}) + (0,31 \times \delta X_{2-4 \text{ Anagen}}) + (0,14 \times \delta X_{10-12 \text{ Anagen}})$$

Wobei X für das stabile Isotop ^{15}N bzw. ^{13}C steht und die Tiefstellung für den Abschnitt und die Strähne (z. B. 0-2 Anagen $\hat{=}$ Abschnitt 0-2 Wochen vor dem Tod bei der Anagenhaarsträhne). Die jeweiligen Werte werden mit 0,55 für 55 % Anagenhaare, 0,31 für 23 % Katagen plus 8 % dystrophische Haare (repräsentieren einen Anagenwert vor zwei Wochen) und 0,14 für 14 % Telogenhaare (repräsentieren einen Anagenwert vor drei Monaten) multipliziert. Setzt man die Mittelwerte der rechtsmedizinischen Proben 1-10 (vgl. Abbildung 20) in die Formel ein, erhält man folgenden errechneten Wert für $\delta^{15}\text{N}_{0-2 \text{ unsortiert}}$:

$$\delta^{15}\text{N}_{0-2 \text{ unsortiert}} = (0,55 \times 10,74 \text{ ‰}) + (0,31 \times 10,03 \text{ ‰}) + (0,14 \times 9,20 \text{ ‰}) = 10,30 \text{ ‰}$$

Dieser errechnete Wert unterscheidet sich nur um 0,14 ‰ vom experimentellen Mittelwert 10,16 ‰, wobei die Messungengenauigkeit des Massenspektrometers bei 0,07 ‰ liegt.

Der Isotopenwert 2-4 Wochen vor dem Tod wird nur noch durch die Telogenhaare gedämpft, da Katagen- und dystrophische Haare ihr Wachstum erst in den letzten beiden Wochen vor dem Tod einstellen. Analog lässt sich der Isotopenwert einer unsortierten Strähne ab zwei Wochen und weiter zurückliegend wie folgt berechnen:

$$\delta X_{2-4 \text{ unsortiert}} = (0,86 \times \delta X_{2-4 \text{ Anagen}}) + (0,14 \times \delta X_{10-12 \text{ Anagen}})$$

$$\delta^{15}\text{N}_{2-4 \text{ unsortiert}} = (0,86 \times 10,03 \text{ ‰}) + (0,14 \times 9,20 \text{ ‰}) = 9,91 \text{ ‰}$$

Setzt man die Werte in die Formel, erhält man einen errechneten $\delta^{15}\text{N}_{2-4 \text{ unsortiert}}$ -Wert von 9,91 ‰. Dieser liegt nur 0,11 ‰ vom experimentellen Mittelwert 9,80 ‰ entfernt. Eine Übersicht über alle errechneten Werte und deren Abweichung zum tatsächlichen Mittelwert findet sich in Tabelle 8.

Tabelle 8: Vergleich der Delta-Notationen für die errechneten und die experimentellen Mittelwerte für jeden Abschnitt der unsortierten Haarsträhne sowie der Abstand zwischen beiden Werten.

Abschnitt	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]			$\delta^{15}\text{N}$ [‰]		
	unsortiert	errechnet unsortiert	Unterschied	unsortiert	errechnet unsortiert	Unterschied
0-2 Wochen vor Tod	-20,51	-20,58	0,07	10,16	10,30	0,14
2-4 Wochen vor Tod	-20,65	-20,66	0,01	9,80	9,91	0,11
4-6 Wochen vor Tod	-20,63	-20,64	0,01	9,46	9,65	0,19
6-8 Wochen vor Tod	-20,74	-20,74	0	9,49	9,36	0,13
8-10 Wochen vor Tod	-20,73	-20,73	0	9,24	9,27	0,03
10-12 Wochen vor Tod	-20,72	-20,72	0	9,27	9,20	0,07

Für die Praxis dürfte es jedoch interessanter sein herauszufinden, welcher wahre Isotopenwert bei einer Haaranalyse angenommen werden kann, wenn sie nicht sortiert werden konnte, da z. B. keine Wurzeln vorhanden sind. Hierzu stellt man die Gleichung um.

Wie oben bereits erläutert, ist vor Einsetzen der Unterernährung der Isotopenwert von Telogenhaaren und Anagenhaaren identisch ($\delta X_{10-12 \text{ unsortiert}} = \delta X_{10-12 \text{ Anagen}}$). Daraus folgen die Gleichungen:

$$\delta X_{0-2 \text{ Anagen}} = \frac{\delta X_{0-2 \text{ unsortiert}} - (0,14 \times \delta X_{10-12 \text{ unsortiert}}) - (0,31 \times \delta X_{2-4 \text{ Anagen}})}{0,55}$$

und

$$\delta X_{2-4 \text{ Anagen}} = \frac{\delta X_{2-4 \text{ unsortiert}} - (0,14 \times \delta X_{10-12 \text{ unsortiert}})}{0,86}$$

Damit ergibt sich folgende Gleichung:

$$\delta X_{0-2 \text{ Anagen}} = \frac{\delta X_{0-2 \text{ unsortiert}} - (0,14 \times \delta X_{10-12 \text{ unsortiert}}) - \left(0,31 \times \left(\frac{\delta X_{2-4 \text{ unsortiert}} - (0,14 \times \delta X_{10-12 \text{ unsortiert}})}{0,86}\right)\right)}{0,55}$$

Umgerechnet erhält man die Gleichung:

$$\delta X_{0-2 \text{ Anagen}} = 1,82 \times \delta X_{0-2 \text{ unsortiert}} - 0,65 \times \delta X_{2-4 \text{ unsortiert}} - 0,16 \times \delta X_{10-12 \text{ unsortiert}}$$

Die Ergebnisse der errechneten Anagen-Werte aus den unsortierten Strähnen sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Vergleich der Delta-Notationen für die errechneten und die experimentellen Mittelwerte für jeden Abschnitt der Anagenhaarsträhne sowie der Unterschied zwischen beiden Werten.

Abschnitt	$\delta^{13}\text{C} \text{ [‰]}$			$\delta^{15}\text{N} \text{ [‰]}$		
	Anagen	errechnet Anagen	Unterschied	Anagen	errechnet Anagen	Unterschied
0-2 Wochen vor Tod	-20,48	-20,59	0,11	10,74	10,64	0,10
2-4 Wochen vor Tod	-20,59	-20,64	0,05	10,03	9,89	0,14
4-6 Wochen vor Tod	-20,67	-20,61	0,06	9,72	9,49	0,23
6-8 Wochen vor Tod	-20,71	-20,74	0,03	9,39	9,52	0,13
8-10 Wochen vor Tod	-20,71	-20,73	0,02	9,29	9,24	0,05
10-12 Wochen vor Tod	-20,74	-20,72	0,02	9,20	9,27	0,07

Betrachtet man den Unterschied zwischen den errechneten und den experimentell bestimmten Werten, zeigt sich eine hohe Übereinstimmung. Dies zeigt, dass die theoretischen Überlegungen zum Verlauf der stabilen Isotope bei Unterernährung stimmig sind. Es muss allerdings bedacht werden, dass die Formeln sehr stark vom Trichogramm abhängen. Für

Durchschnittswerte ist die Übereinstimmung hoch, wenn man jedoch Tabelle 14 betrachtet, fällt auf, dass z. B. der Anagenhaar-Anteil mit einer Standardabweichung von 18 % stark um den Mittelwert von 55 % schwankt. Da das Trichogramm bei Unterernährung sehr variabel ist, können sich die errechneten Werte auch stark vom experimentell bestimmten Wert unterscheiden.

Eine andere Herangehensweise an die Problematik der Interpretation von unsortierten Haarsträhnen bieten Williams *et al.* (2011) mit dem erstmals von Schwertl *et al.* (2003) vorgestellten ‚*optimal shift distance*‘-Modell. Sie korrelieren anhand des Vergleichs von unsortierten und Anagenhaarsträhnen, wie lange der Isotopenwert der unsortierten Haarsträhne der Anagenhaarsträhne durch Miterfassung der nicht wachsenden Telogenhaare zurückbleibt. Letztendlich kommen sie zu demselben Ergebnis, dass durch die nicht wachsenden Haare der wahre Wert nicht adäquat wiedergegeben wird, da sie einen Isotopenwert repräsentieren, der zu einer früheren Zeit inkorporiert wurde. Sie kommen zu dem Ergebnis, dass in den meisten Fällen der Wert der unsortierten Haarsträhne ca. einen Monat hinter dem der Anagenhaarsträhne zurückbleibt, dies jedoch auch interindividuell stark variiert. Betrachtet man die in der Publikation von Williams *et al.* (2011) aufgeführten Trichogramme, wird klar, dass dies an der schwankenden Zahl nicht wachsender Haare liegt. Die hier vorgestellte Methode der ‚Dämpfung‘ ist der ‚*optimal-shift distance*‘ Methode bei Unterernährung und Krankheit dahingegen überlegen, dass sie Katagen- und Telogenhaare berücksichtigt, die jeweils unterschiedlich lange zurückliegende Isotopenwerte repräsentieren. Daher sind die Werte der unsortierten Haarsträhnen in der vorliegenden Arbeit auch weniger weit zurückliegend, da es sich zwar insgesamt um mehr nicht wachsende Haare handelt, diese jedoch zum Großteil aus Katagenhaaren bestehen. Dies führt beim ‚*optimal shift distance*‘ Modell zu Ungenauigkeit. Die hier vorgestellte Methode bezieht sich hingegen nur auf Dämpfung von Isotopenwerten bei einem Anstieg, wie er z. B. bei Unterernährung stattfindet. Bei einem undulierenden Verlauf kann diese Methode nicht angewandt werden. Beide Herangehensweisen zeigen jedoch, dass die theoretischen Überlegungen über die verzerrte Isotopensignatur durch unsortierte Strähnen richtig sind und dies bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden muss.

V.2.2 Stabile Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff

Grundsätzlich muss festgehalten werden, dass kein absoluter Wert für Unterernährung angegeben werden kann, da der Ausgangswert bei Nahrungskarenz entscheidend ist. Eine Person, welche sich vegan ernährt und dann verhungert, wird perimortal einen niedrigeren Isotopenwert haben, als eine verhungerte Person, die sich omnivor ernährt hat. Das bedeutet, dass eine Unterernährung nur durch den Isotopenverlauf detektiert werden kann. Wie Abbildung 29 und Abbildung 30 zeigen, steigt der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert in den letzten 12 Wochen vor dem Tod von durchschnittlich 9,09 ‰ auf 10,15 ‰ (Mittelwert aus 16 Probanden) und damit um 1,06 ‰ (bzw. ca. 0,1 ‰/Woche) und der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von - 20,65 ‰ auf - 20,51 ‰, also um 0,14 ‰ (bzw. ca. 0,015 ‰/Woche). Der maximale Unterschied zwischen Ausgangswert und perimortalem $\delta^{15}\text{N}$ -Wert betrug 3,4 ‰ und damit mehr als eine Trophiestufe (O'Connell & Hedges 1999a). Vergleicht man die Anamnesen der Probanden (siehe Kapitel V.4.1) lässt sich ableiten, dass der Anstieg mit dem Grad der Unterernährung korreliert. Neuberger (2013) konnte einen ähnlichen Trend zeigen, der jedoch weniger ausgeprägt war. Die meisten Probanden zeigten einen Anstieg der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte. Von diesen war der mittlere Anstieg (0,75 ‰) deutlich geringer als in der vorliegenden Arbeit. Das verwundert jedoch nicht, wenn man bedenkt, dass in der Studie von Neuberger (2013) unsortierte Haarsträhnen verwendet wurden.

Auch die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zeigten bei Neuberger (2013) ein ähnliches Verhalten. In den meisten Fällen stiegen die Werte an, in 7 von 17 Fällen zeigte sich jedoch ein Abfall. In der vorliegenden Arbeit fielen bei 7 von 16 Fällen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ab, insgesamt gab es jedoch einen geringen Anstieg. Der Verlauf der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ist damit nicht einheitlich. Neuberger (2013) erklärt das Schwanken der Werte durch die Phasen des Hungerstoffwechsels. Beim frühen Hungerstoffwechsel wird die Energie hauptsächlich durch Proteine bereitgestellt. Bei prolongiertem Hungerstoffwechsel wird zunehmend Fettgewebe abgebaut und zur Energieversorgung herangezogen. Erst nach Verbrauch der Fettreserven werden die letzten Proteinreserven angetastet. Neuberger (2013) nimmt daher an, dass bei vermehrter Mobilisation der Fettreserven der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert abfällt, da die Kohlenstoffgruppe der Aminosäuren aus Fettgewebe rekrutiert werden würde, welches niedrigere $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aufweist. Theoretisch ist dies durchaus denkbar, da bei Unterernährung die körpereigenen Proteine als einzige Stickstoffquelle abgebaut werden und daher eine hohe Turnover-Rate zu erwarten wäre. Die Aminosäuren dienen nicht nur der Energiebereitstellung durch glucogene und ketogene Aminosäuren, sondern unter anderem auch dem Transport von Stickstoff im Blut, der Bereitstellung und Entgiftung durch Ammoniak oder als Stickstofflieferant zur Synthese von

Nukleotiden (Rassow *et al.* 2012). Dass bei den zahlreichen Umbauvorgängen und dem gleichzeitigen Abbau der Fettsäuren auch Kohlenstoffatome aus dem Fettgewebe über den Citratzyklus als Kohlenstoffgerüst neu synthetisierter Aminosäuren verwendet werden, ist durchaus möglich. Als alleinige Erklärung für den Isotopenverlauf kann dies jedoch nicht ausreichend sein, da die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte mehrheitlich ansteigen. Vermutlich ist dieser Effekt einer von mehreren Faktoren, die den Isotopenwert beeinflussen. Da es laut Biesalski *et al.* (2017) selbst bei Nahrungskarenz einen obligaten Proteinverlust von 24 g/Tag gibt, wäre es zudem günstiger, die abgebauten Aminosäuren ohne Umwandlung ins Haar einzubauen und so bis zu 2,3 g/Tag auszuscheiden.

Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte schwanken zudem nur sehr gering. Der deutlichste Unterschied ist 0,89 ‰. Wie vorangegangen beschrieben, sollte durch die Unsicherheiten in der Probenaufbereitung erst ab einem Wert über 0,6 ‰ gesichert von einer ernährungsbedingten Abweichung ausgegangen werden. Vermutlich ist der uneinheitliche Verlauf der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zum einen durch den internen Trophiestufeneffekt bedingt, welcher zu einer Erhöhung führt und zum anderen durch Kohlenstoffatome aus dem Fettgewebe, welche zu einer Erniedrigung führen. Erschwerend kommt hinzu, dass unterernährte Personen oftmals in geringem Umfang Nahrung zu sich nehmen und dies die Werte zudem beeinflusst.

Ein weiterer möglicher Grund für schwankende Isotopenwerte sind 10 % Nichtkeratine in der Proteinfraction der Haare, zu denen z. B. das Melanin zählt, welches eine hohe C/N Variabilität aufweist (Tobin 2006). Zudem besteht das Haar aus ca. 1,5 % internen Lipiden (Méndez *et al.* 2008), die nicht durch den Waschschrift entfernt werden.

Der im Durchschnitt geringe Anstieg des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts, und dass bei den Probanden, bei denen anamnestisch eine absolute Nahrungskarenz bekannt ist, beide δ -Werte stark ansteigen, spricht jedoch dafür, dass der Trophiestufeneffekt mit Anreicherung des ^{13}C -Isotops im Keratin bei Unterernährung überwiegt. Dennoch sollte der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert aufgrund oben genannter Unsicherheiten und dem zu geringen Effekt nicht zur Diagnose einer Unterernährung herangezogen werden. Insgesamt ist ein Zusammenspiel der klinischen Befunde, des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts, der Aminosäurezusammensetzung und ggf. der Obduktionsbefunde entscheidend.

V.2.3 Aminosäurezusammensetzung

Betrachtet man Abbildung 36 erkennt man lediglich geringe Schwankungen der Aminosäurezusammensetzung des Keratins im zeitlichen Verlauf. Um die Veränderungen auch von wenig im Keratin vorhandenen Aminosäuren sichtbar zu machen, wurde ihre Abweichung vom Ausgangswert (10-12 Wochen vor dem Tod) in Prozent in Abbildung 37 dargestellt. Hier zeigt sich, dass Isoleucin, Cystein, Valin, Threonin und Tyrosin abfallen. Serin ist mit 99 % weitgehend konstant. Bei allen abfallenden Aminosäuren handelt es sich daher um essenzielle bzw. bedingt essenzielle Aminosäuren. Die übrigen, im Keratin vorkommenden (bedingt) essenziellen Aminosäuren Leucin, Phenylalanin, Lysin und Histidin schwanken weitgehend um ihren Ausgangswert. Lediglich die bedingt essenziellen Aminosäuren Methionin und Arginin steigen bei Unterernährung an. Diese Aminosäuren kommen jedoch nur in geringer Menge im Keratin vor, weshalb auch kleine Abweichungen einen starken Effekt zeigen. Zudem handelt es sich bei der Einheit nmol% um den prozentualen Anteil einer Aminosäure am Gesamtprotein. Es kann also keine Aussage zur absoluten Anzahl an Aminosäuren in einem Protein getroffen werden. Daher ist die Betrachtung der Aminosäurekonzentration in nmol/mg für die weitere Interpretation wichtig.

In Abbildung 39 sieht man die Gesamtkonzentration an Aminosäuren im Haar, die innerhalb des Messfehlers um den Mittelwert von 6712 nmol/mg schwankt. Nach Berücksichtigung der molaren Massen der Aminosäuren errechnet sich eine theoretische Proteinkonzentration von 71 % im Haar. Dies ist bezogen auf das Trockengewicht etwas gering und vermutlich der Messungenauigkeit der Feinwaage (bei zumeist Einwaagen von unter 0,1 mg) und methodisch bedingten Verlusten bei der Hydrolyse geschuldet. Es zeigt jedoch, dass das gebildete Haar trotz Unterernährung keine signifikanten Massenverluste aufweist und in seiner Struktur stabil bleibt.

Der Verlauf der einzelnen Aminosäurekonzentrationen in Abbildung 38 zeigt ebenfalls, dass die (bedingt) essenziellen Aminosäuren, welche perimortal einen verminderten nmol% Anteil am Gesamtprotein aufweisen, auch von der Konzentration abfallen, ebenso wie die (bedingt) essenziellen Aminosäuren, welche keine Veränderung in nmol% zeigen. Methionin steigt zwar bezüglich der nmol/mg Konzentration gering an (von 32 auf 34 nmol/mg), dies ist jedoch innerhalb der Standardabweichung von 13 nmol/mg nicht relevant. Insgesamt kann also von einem Konzentrationsabfall der (bedingt) essenziellen Aminosäuren bei Unterernährung ausgegangen werden.

Dass die Aminosäuren (außer Alanin, Methionin und Glycin) 0-2 Wochen vor dem Tod geringer konzentriert sind (nmol/mg) als ihr Ausgangswert und dies 2-4 Wochen vor dem Tod noch nicht der Fall ist, könnte auch am Wurzelbereich dieses Abschnitts liegen. Es handelt sich hierbei um die keratogene Zone, in der die Verhornung noch nicht vollständig abgeschlossen ist. Daher sind vermutlich die Aminosäurekonzentrationen in diesem Abschnitt vermindert. Der Aminosäureanstieg von Alanin, welcher den einzigen deutlichen Anstieg darstellt, könnte ebenfalls darin begründet sein. Der in den Zellen überschüssige Stickstoff wird zur Synthese des Alanins verwendet, das vor allem dem Transport von Stickstoff im Blut dient und in der Leber dem Harnstoffzyklus zugeführt wird (Rassow *et al.* 2012). Die Erhöhung von Alanin im Wurzelbereich könnte auf einen erhöhten Aminosäure- bzw. Proteinstoffwechsel hindeuten, wie er bei Unterernährung durch den Abbau von Muskel zur Energiegewinnung stattfindet.

Friedman und Orraca-Tetteh (1978) konnten bei unterernährten Personen einen um 20 % erniedrigten Cystinwert feststellen. Diese Beobachtung, wenn auch weniger ausgeprägt (ca. 7 % Erniedrigung des perimortalen Cystinwerts gegenüber dem Ausgangswert), konnte auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit gemacht werden. Bei Neuberger (2013) hatten die unterernährten Probanden verminderte Cysteinwerte. Zum Cystinwert trifft Neuberger (2013) keine Aussage. In der vorliegenden Arbeit wurde ebenfalls mit dem Cysteinwert gearbeitet, der näherungsweise als die doppelte Menge des analysierten Cystins angenommen wurde. Ein verringerter Cysteinwert könnte ein Grund sein, weshalb Methionin die einzige essenzielle Aminosäure ist, welche relativ (nmol%) ansteigt. Betrachtet man Abbildung 42 fällt auf, dass im Muskel kaum Cystein vorhanden ist und Methionin ebenfalls nur in geringem Umfang. Aus Methionin kann Cystein synthetisiert werden, jedoch nur wenn Methionin in ausreichenden Mengen vorhanden ist (Rassow *et al.* 2012). Die Konzentration in nmol/mg von Methionin im Haar bleibt weitgehend konstant, weshalb die relative Erhöhung in nmol% auf eine verminderte Synthese von Cystein nach Erschöpfung der Methioninreserven zurückzuführen sein könnte. Cystein ist wiederum für die Disulfidbrücken und damit für die Stabilität des Keratins verantwortlich, was bei einem Mangel zu brüchigem Haar führen kann. Es ist zudem bekannt, dass Cystein präventiv für eine reduzierte Keratinbildung wirkt (Miniaci *et al.* 2016). Damit sind die Ergebnisse insgesamt stimmig. Wenn Methionin nicht mehr ausreichend vorhanden ist, wird Cystein vermindert gebildet. Dies führt zu einer insgesamt verminderten Keratinbildung und ist vermutlich verantwortlich für die reduzierte Aminosäurekonzentration perimortal, die letztendlich zum Wachstumsstopp führt. Hieraus resultiert der reduzierte Anagenhaar-Anteil. Insgesamt hat Methionin mit 0,44 nmol% den geringsten Anteil an den

Aminosäuren, während Cystein mit 12,06 nmol% mit zu den häufigsten Aminosäuren im Haar zählt (vgl. Abbildung 28).

Die Beobachtung von Neuberger (2013), dass bei Unterernährung vermehrt Prolin im Keratin vorkommt, konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden. Der nmol% Wert bleibt weitgehend identisch, die Konzentration in nmol/mg sinkt sogar geringfügig. Neuberger (2013) untersuchte jedoch nur sieben Proben und diese als unsortierte Strähnen. Außerdem wurden die absoluten Konzentrationen in nmol/mg nicht bestimmt, weshalb Neuberger (2013) nur eine relative Änderung (nmol%) feststellen konnte, die sich zudem innerhalb der Fehlerspannen im Bereich von normalem Keratin befand.

Auffällig ist zudem, dass Tyrosin sowohl relativ (nmol%) als auch von seiner Konzentration (nmol/mg) sehr früh abfällt. Dies ist möglicherweise durch eine verminderte Melaninsynthese zu erklären, da Melanin aus Tyrosin synthetisiert wird (Harkey 1993). Makroskopisch konnte jedoch keine verminderte Pigmentierung entlang des Haarschafts beobachtet werden. Da Tyrosin nur mit ca. 2 nmol% im Keratin vertreten ist (vgl. Tabelle 19), dürfte der Effekt keinen großen Einfluss auf den Isotopenwert haben.

Jackson *et al.* (2015) konnten nachweisen, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Threonin und Cystein die besten Parameter darstellen, um den BMI von Personen zu identifizieren. Jedoch fand sich in ihrer Studie lediglich ein signifikanter Unterschied zwischen dem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von Threonin von übergewichtigen Personen und dem Wert von normalernährten Personen bzw. Personen mit einem BMI < 20, weshalb er sich nur zur Diagnose von Übergewicht eignet. Auch in der vorliegenden Arbeit sind unter den Aminosäuren, welche bei Unterernährung abfallen, Cystin und Threonin diejenigen, welche im Haar zu einem ausreichend großen Anteil vorkommen, um auch einen Effekt auf den Isotopenwert zu zeigen. Betrachtet man die Aminosäuren, welche eine Veränderung bei Unterernährung im Verlauf (nmol%) zeigen und gleichzeitig aufgrund ihrer Stickstoff- bzw. Kohlenstoffatome sowie ihrer Konzentration (nmol/mg) im Keratin einen größeren Beitrag zum Gesamtisotopenverhältnis liefern, fallen vor allem Cystein und Threonin, welche bei Unterernährung absinken sowie Alanin, das bei Unterernährung ansteigt, auf. Nimmt man die δ -Werte der einzelnen Aminosäuren aus Tabelle 2 von Petzke *et al.* (2005b) und Bichon *et al.* (2018) zugrunde, heben sich der Abfall von Cystein ($\delta^{15}\text{N}=10,2\text{ ‰}$) und der Anstieg von Alanin ($\delta^{15}\text{N}=10,3\text{ ‰}$) gegenseitig auf. Der Abfall von Threonin ($\delta^{15}\text{N}=-9,3\text{ ‰}$) hat jedoch einen starken Effekt und könnte zumindest für den $\delta^{15}\text{N}$ -Anstieg perimortal mitverantwortlich sein. Beim $\delta^{13}\text{C}$ -Wert gestaltet sich die Interpretation schwieriger. Wie bereits erwähnt, kommen die Kohlenstoffatome vermutlich zum einen aus dem Fettgewebe

durch neu synthetisierte Aminosäuren und zum anderen aus dem Muskel. Hierauf wird im folgenden Kapitel näher eingegangen. Zumindest für den Teil der Aminosäuren, welche aus dem Muskel stammen, lässt sich für die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ableiten, dass eine Verminderung von Threonin ($\delta^{13}\text{C}=-28,2\text{‰}$) den Gesamteisotopenwert ansteigen lassen würde und somit den Effekt des absinkenden Cysteins ($\delta^{13}\text{C}=-16,6\text{‰}$) aufheben würde. Hier wäre das vermehrte Alanin mit ($\delta^{13}\text{C}=-15,2\text{‰}$) die Aminosäure, welche den geringen Anstieg des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts erklärt.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die essenziellen Aminosäuren bei Unterernährung abfallen, dieser Effekt jedoch innerhalb der Fehlerspannen der Aminosäureanteile normalernährter Personen liegt (vgl. Abbildung 42) und daher das gebildete Keratin eine relativ stabile Zusammensetzung hat. Vermutlich führt der angedeutete Mangel an Aminosäuren kurz vor dem Tod nicht zu defektem Keratin, sondern zu einer Einstellung des Haarwachstums. Ein verringertes Anagenhaar-Verhältnis in Kombination mit einem steigenden $\delta^{15}\text{N}$ -Wert und einem verringerten Anteil (bedingt) essenzieller Aminosäuren perimortal stellen also ein starkes Indiz für eine Unterernährung dar. Der Gesamteisotopenwert setzt sich vermutlich zusammen durch einen Abfall der (bedingt) essenziellen Aminosäuren Cystein und Threonin und einem Anstieg von Alanin, welches einen gesteigerten Aminosäuremetabolismus anzeigt. Bis zu 30 % der aus dem Muskel freigesetzten Aminosäuren nimmt laut Rassow *et al.* (2012) Alanin ein.

V.2.4 Erkenntnisse zum Hungerstoffwechsel (Gewebevergleich)

Um die Herkunft der Kohlenstoff- und Stickstoffatome zu untersuchen und den Fraktionierungsfaktor der Gewebe bei Unterernährung abschätzen zu können, wurden Muskel, Knochen und Fett untersucht (vgl. Kapitel IV.2.1.2). Da der Knochen nur eine langsame Umbaurate zeigt, spiegelt sein Isotopenwert die Ernährung vor Einsetzen der Unterernährung wider. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Kollagens liegen durchschnittlich bei $-20,17\text{‰}$. Damit sind sie im erwarteten Bereich für eine C3-Pflanzen basierte Ernährung und nicht unüblich für die Ernährungsgewohnheiten in Deutschland (Grupe *et al.* 2015). Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte liegen im Mittel bei $11,01\text{‰}$ und sind damit vereinbar mit einer omnivoren Ernährung. Die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des Kollagens sind um $1,67\text{‰}$ höher als der Haarisotopenwert 10-12 Wochen vor dem Tod und die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Knochenkollagens sind um $0,59\text{‰}$ positiver. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Lehn und Graw (2014) und O'Connell *et al.* (2001). Es handelt sich auch bezüglich der Haarisotopenwerte 10-12 Wochen vor dem Tod um eine omnivore Ernährungsweise. Wie eingangs erwähnt, sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im Fett ca. um 3‰ gegenüber

der Nahrung vermindert und die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im Haar ca. um 3 ‰ gegenüber der Nahrung erhöht. Auch der Gewebevergleich bestätigt dies, da die Haare 10-12 Wochen vor dem Tod im Durchschnitt 5,51 ‰ positiver sind als das Fettgewebe. Die perimortalen Haarabschnitte, welche den Isotopenwert bei Hungerstoffwechsel repräsentieren, sind wie vorhergehend bereits beschrieben mit schwerem Isotop angereichert und haben dementsprechend höhere $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte als 10-12 Wochen vor dem Tod. Die perimortalen Werte sind gegenüber dem Muskelisotopenwerte im Mittel ebenfalls erhöht, nämlich um 0,26 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$ und 1,04 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$. Dies macht deutlich, dass bei Unterernährung das Muskelgewebe nicht einfach mit Nahrungsprotein gleichgesetzt werden kann, da sonst die Trophiestufeneffekte zwischen Haar und Muskel vor allem für den $\delta^{15}\text{N}$ -Wert deutlicher ausfallen müsste (ca. 3 ‰). Dies ist nicht verwunderlich, da beim Hungerstoffwechsel gänzlich andere Enzyme eine Rolle spielen, als beispielsweise bei Nahrungsaufnahme bzw. Verdauung. Rhee *et al.* (1997) zeigten, dass nach ca. fünf Wochen eine Stabilisierung der Isotopenwerte von Blutfetten erfolgt, welche sich an die Werte der Nahrungsfette anpassen. Dementsprechend müssten die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, für den Fall, dass die Kohlenstoffisotope für die Synthese des Keratins lediglich aus den Fettspeichern rekrutiert würden, im Verlauf negativer werden. Da sie jedoch meist sogar ansteigen, kann postuliert werden, dass sie auch aus dem Muskelprotein rekrutiert werden. Würden sie jedoch nur aus dem Muskel stammen, wäre ein noch höherer $\delta^{13}\text{C}$ -Wert zu erwarten.

Raghavan *et al.* (2010) vergleichen Kollagen und Keratin mit LC/IRMS mit der Fragestellung, warum der Trophiestufeneffekt des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts im Kollagen mit 4-5 ‰ höher ist als im Keratin mit 1-2 ‰. Ihre Ergebnisse liefern Hinweise, dass die höhere Fraktionierung im Kollagen durch nicht essenzielle Aminosäuren verursacht wird, die einen langsamen Aminosäurepool haben, da sie endogen synthetisiert werden, wohingegen essenzielle Aminosäuren direkt von der Nahrung aufgenommen und eingebaut werden und daher einen schnellen Aminosäurepool haben. Durch die höhere Syntheserate der Haare würden laut Raghavan *et al.* (2010) auch nicht essenzielle Aminosäuren aus der Nahrung ins Keratin aufgenommen, was zu einer geringeren Fraktionierung gegenüber den selbst synthetisierten, nicht essenziellen Aminosäuren im Kollagen führen würde. Wahrscheinlicher ist jedoch einfach der unterschiedliche Anteil an (bedingt) essenziellen Aminosäuren im Kollagen und Keratin. Laut der hier durchgeführten Aminosäureanalysen besteht der Haarstandard zu 45,58 % aus (bedingt) essenziellen Aminosäuren. Unter Berücksichtigung der Summenformeln (Anzahl der Kohlenstoffatome in den jeweiligen Aminosäuren) stellen die (bedingt) essenziellen Aminosäuren, auch aufgrund des hohen Anteils von Cystein, demnach 51 % der Kohlenstoffatome des Haarproteins. Nimmt man die Aminosäurezusammensetzung von Kollagen aus Ambrose (1993) zugrunde, tragen die

(bedingt) essenziellen Aminosäuren nur 27 % der Kohlenstoffatome zum Gesamtprotein bei, da Kollagen reich an nicht essenziellen Aminosäuren (Glycin, Prolin, Hydroxyprolin) ist. Vermutlich ist die stärkere Fraktionierung also auf den höheren Anteil nicht essenzieller Aminosäuren im Kollagen zurückzuführen. Die ermittelten 51 % Kohlenstoffatome aus (bedingt) essenziellen Aminosäuren in der vorliegenden Arbeit decken sich mit den Ergebnissen von Ayliffe *et al.* (2004), wonach Haare ca. zur Hälfte durch den langsamen und den schnellen Aminosäurepool synthetisiert werden.

Bei Unterernährung ergeben sich daraus folgende Überlegungen: Die (bedingt) essenziellen Aminosäuren gehören dem schnellen Pool an und werden nach Abbau des Muskels direkt ins Keratin eingebaut, wobei ihr Kohlenstoffanteil am Gesamtprotein 51 % ausmacht. Die nicht essenziellen Aminosäuren würden, wie schon von Neuberger (2013) postuliert, aus Kohlenstoffatomen des Fettgewebes synthetisiert und dann ins Keratin eingebaut werden. Vermutlich ist der schnelle Aminosäurepool jedoch bei Unterernährung stärker als 51 % ausgeprägt, da es energetisch günstiger ist, auch nicht essenzielle Aminosäuren, die durch den Abbau von Muskulatur frei werden, unmittelbar ins Keratin einzubauen als die Aminogruppe mittels Transaminierung auf ein Kohlenstoffgerüst der Lipolyse zu setzen. Die geringen Veränderungen und leichten Schwankungen der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte wären durch die Theorie der sich gegenseitig aufhebenden Effekte (Kohlenstoff aus Fett und Muskel) erklärbar, je nachdem wie viele Kohlenstoffatome aus dem Fettgewebe (auch abhängig von der jeweiligen Phase des Hungerstoffwechsels) den internen Trophiestufeneffekt durch ihren negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Wert dämpfen.

Als Stickstoffquelle kommt lediglich das Muskelgewebe infrage. Dass der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert im Haar perimortal nicht einfach 3 ‰ höher ist als das Muskelgewebe (wie es für Nahrungsprotein zu erwarten wäre), sondern nur um 0,26 ‰, liegt vermutlich an den Isotopenwerten der einzelnen Aminosäuren. Dies wurde im vorangegangenen Kapitel bereits eingehend behandelt. Als Stickstoffdonatoren für die neu synthetisierten nicht essenziellen Aminosäuren dienen vermutlich Alanin und Glutamin, welche für den Transport von Stickstoff im Blut hauptsächlich verantwortlich sind (Rassow *et al.* 2012). Sie dürften mitunter für den Anstieg von $\delta^{15}\text{N}$ verantwortlich sein. Die (bedingt) essenziellen Aminosäuren, welche einen großen Anteil der Stickstoffatome im Keratin stellen, und wie oben erwähnt dem schnellen Aminosäurepool angehören, könnten hingegen der Grund sein, weshalb der interne Trophiestufeneffekt nicht so ausgeprägt ist, da sie enzymatischen Reaktionen und damit dem kinetischen Isotopeneffekt weniger stark ausgeliefert sind.

V.3 Genetischer Einfluss

Schwieriger als der Verlauf von Isotopenwerten einer Person gestaltet sich die Interpretation beim Vergleich zweier unterschiedlicher Individuen, da die Variabilität der Isotopenwerte entsprechend der Nahrungszusammensetzung interindividuell groß ist. Um diesem Problem zu begegnen, wurde die Zwillingsstudie durchgeführt. Der mittlere Unterschied der monozygoten Zwillingspaare beträgt 0,22 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$ und der mittlere Unterschied der dizygoten 0,30 ‰. Wegen des gemeinsamen Familienverbundes wurde eine ähnliche Nahrungszusammensetzung angenommen. Der gewaschene Haarstandard hat eine Standardabweichung von 0,21 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$, was ziemlich genau der Abweichung der monozygoten Zwillinge entspricht. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen mono- und dizygoten Zwillingspaaren konnte nicht nachgewiesen werden. Sollte es einen genetischen Einfluss auf die Isotopenwerte geben, ist dieser kleiner als der Messfehler und somit vernachlässigbar. Auch für den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert konnte kein genetischer Einfluss auf die Isotopenwerte nachgewiesen werden.

Benda (2015) konnte auch nach Ausschluss der Extremwerte oder unter Berücksichtigung unterschiedlicher Geschlechter bei den dizygoten Zwillingspaaren keinen signifikanten Unterschied zwischen mono- und dizygoten Paaren feststellen. Sie zeigte zudem, dass auch eine Haarlängendifferenz unter den Zwillingspaaren, also unterschiedlich lange Zeiträume der Nahrungsinkorporation, keinen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse hat.

Zwar sind Zellstruktur und Haarfarbe komplex polygen determiniert (Wolff 2017; Yang *et al.* 2014), jedoch ist der Einfluss auf den Gesamtisotopenwert vernachlässigbar. Damit können die in der Literatur bisher spärlichen Hinweise, dass Keratin in seiner Struktur stark konserviert ist (Tobin 2006), und dass Alter und Geschlecht keinen Einfluss auf die Isotopenwerte haben (Valenzuela *et al.* 2018), bestätigt werden. Für die Interpretation von Isotopenwerten ist dies ein großer Vorteil, da damit ein weiterer Störfaktor bei der Isotopenvariabilität ausgeschlossen werden kann.

V.4 Forensische und historische Anwendung

V.4.1 Individualbefunde der rechtsmedizinischen Proben

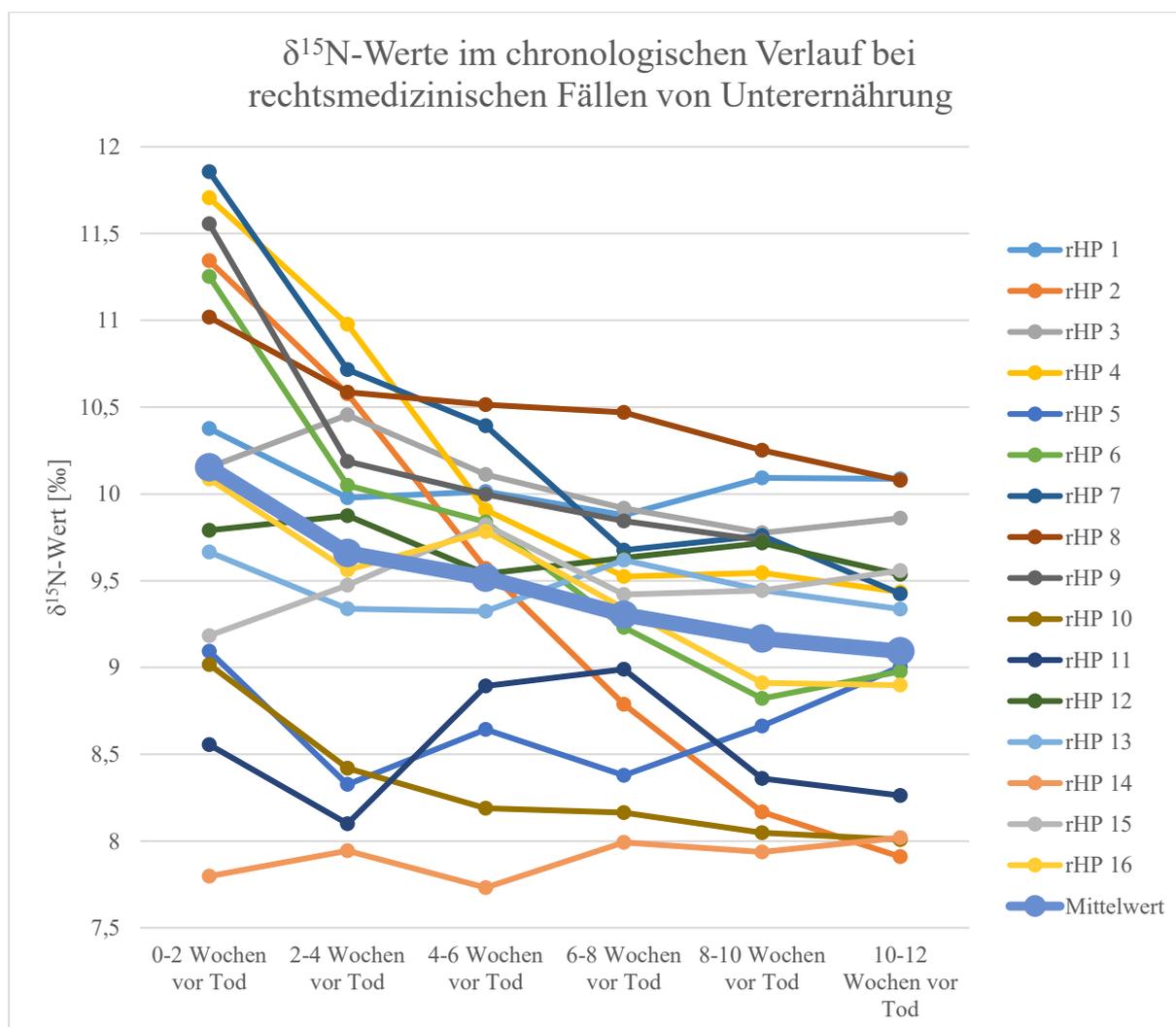


Abbildung 44: Chronologischer Verlauf der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von Haarsträhnen unterernährter rechtsmedizinischer Probanden (rHP). Ein analysierter Haarabschnitt von 5 mm entspricht ca. zwei Wochen. Die Werte entsprechen dem Mittelwert aus zwei Messungen, außer bei rHP 11, 12 und 16 (hier nur eine Messung). Die größte Messunsicherheit des Massenspektrometers ist 0,07 ‰.

Abbildung 44 und Abbildung 45 zeigen den Verlauf der $\delta^{15}\text{N}$ - bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aller 16 rechtsmedizinischen Probanden, die aus dem Mittelwert der zwei Messreihen ermittelt wurden. Bei rHP 11, 12 und 16 konnte wegen fehlendem Material nur eine Messreihe durchgeführt werden. Insgesamt bewegen sich die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte zwischen 7,7 ‰ (Proband 14) und 11,9 ‰ (Proband 7). Die Werte 10-12 Wochen vor dem Tod sind zwischen 7,91 ‰ bei Proband 2 und 10,08 ‰ bei Proband 8 und damit im vegetarischen bzw. omnivoren Ernährungsbereich.

Proband 14 und Proband 15 sind die Einzigen, bei denen der Anfangswert (10-12 Wochen vor Tod) höher als der perimortale Wert ist. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der beiden Probanden bleiben ebenfalls

relativ stabil. Dies kann durch die anamnestischen Angaben erklärt werden, da Proband 14 eine junge Frau war, die zwar einen BMI von 16 kg/m^2 hatte, jedoch an Bulimie litt und vermutlich an einer Intoxikation verstarb. Ihre Isotopenwerte sprechen für eine vegetarische Ernährung. Vermutlich hat **Probandin 14** trotz des BMIs, welcher für eine Unterernährung spricht, in den letzten Wochen vor ihrem Tod noch ausreichend Nährstoffe zu sich genommen, sodass die Todesursache Intoxikation wahrscheinlicher ist als das Verhungern. **Proband 15** hatte ebenfalls einen reduzierten BMI mit $14,7 \text{ kg/m}^2$, jedoch angeblich noch eine normale Ernährung vor dem Tod. Als Todesursache wurde der Verdacht auf einen Ileus geäußert. Dies ist mit den Isotopenwerten vereinbar, die keinen Hinweis auf Verhungern liefern. Der kachektische Habitus ist daher auf die vorbeschriebene COPD (Chronisch obstruktive Lungenerkrankung) zurückzuführen, da dieses Erscheinungsbild für Emphysematiker typisch ist (Piper 2007). Obwohl bei Proband 3 und 12 die Werte insgesamt ansteigen, fallen sie ebenso wie bei den Probanden 14 und 15 perimortal noch einmal ab. Auch dies ist durch die anamnestischen Angaben erklärbar. Bei **Proband 3** (BMI $10,3 \text{ kg/m}^2$), einem Schlaganfallpatienten, gilt als Todesursache die Aspiration von Speisebrei. Der Patient, dessen Isotopensignatur sich im omnivoren Bereich bewegte, hatte zunehmend weniger gegessen, was den $\delta^{15}\text{N}$ -Anstieg erklärt. Kurz vor dem Tod wurde vermutlich versucht der Unterernährung gegenzusteuern. Dass er an aspiriertem Speisebrei verstarb, besagt, dass er kurz vor dem Tod Nahrung zu sich genommen hat und erklärt den Abfall des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts. Bei **Probandin 12** (BMI $11,75 \text{ kg/m}^2$) stehe die Kachexie laut rechtsmedizinischen Angaben vermutlich im Zusammenhang mit einer psychischen Erkrankung. Eventuell sind die schwankenden Isotopenwerte ein Ausdruck unregelmäßiger Ernährung. Bei den Probanden 5 und 11 schwanken die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte sehr stark. **Proband 5** hatte einen normalen BMI, war jedoch in einem schlechten Pflegezustand. **Proband 11** war dement, hatte einen Schlaganfall und war zudem querschnittsgelähmt. Die schwankenden Isotopenwerte könnten in beiden Fällen von unregelmäßiger Ernährung bei Vernachlässigung zeugen.

Bei den übrigen Probanden zeigt sich allerdings das Muster, dass es einen kontinuierlichen Anstieg der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von „10-12 Wochen vor dem Tod“ bis perimortal gibt, mit dem stärksten Anstieg in den Wochen unmittelbar vor dem Tod. Der höchste Anstieg, nämlich $3,4 \text{ ‰}$, ist bei Proband 2 zu verzeichnen. Da hier auch die beste Ernährungsanamnese vorliegt, wird dieser Proband nachfolgend gesondert diskutiert. Auffällig ist auch die Beobachtung, dass die Probanden 2, 5, 6, 7, 8 und 16 exsikkiert waren und damit auch durch zu geringe Flüssigkeitsaufnahme auffielen. Diese Probanden zeigen deutliche Anstiege der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte. Möglicherweise ist ein gewisser Teil auch auf die Flüssigkeitsrestriktion zurückzuführen. Es ist

bekannt, dass klimatische Effekte bzw. Wasserstress durch hoch konzentrierten Urin zu einer starken Anreicherung von ^{14}N im Urin führt und sich daher der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert im Gewebe erhöht (Ambrose 1993; Grupe *et al.* 2015).

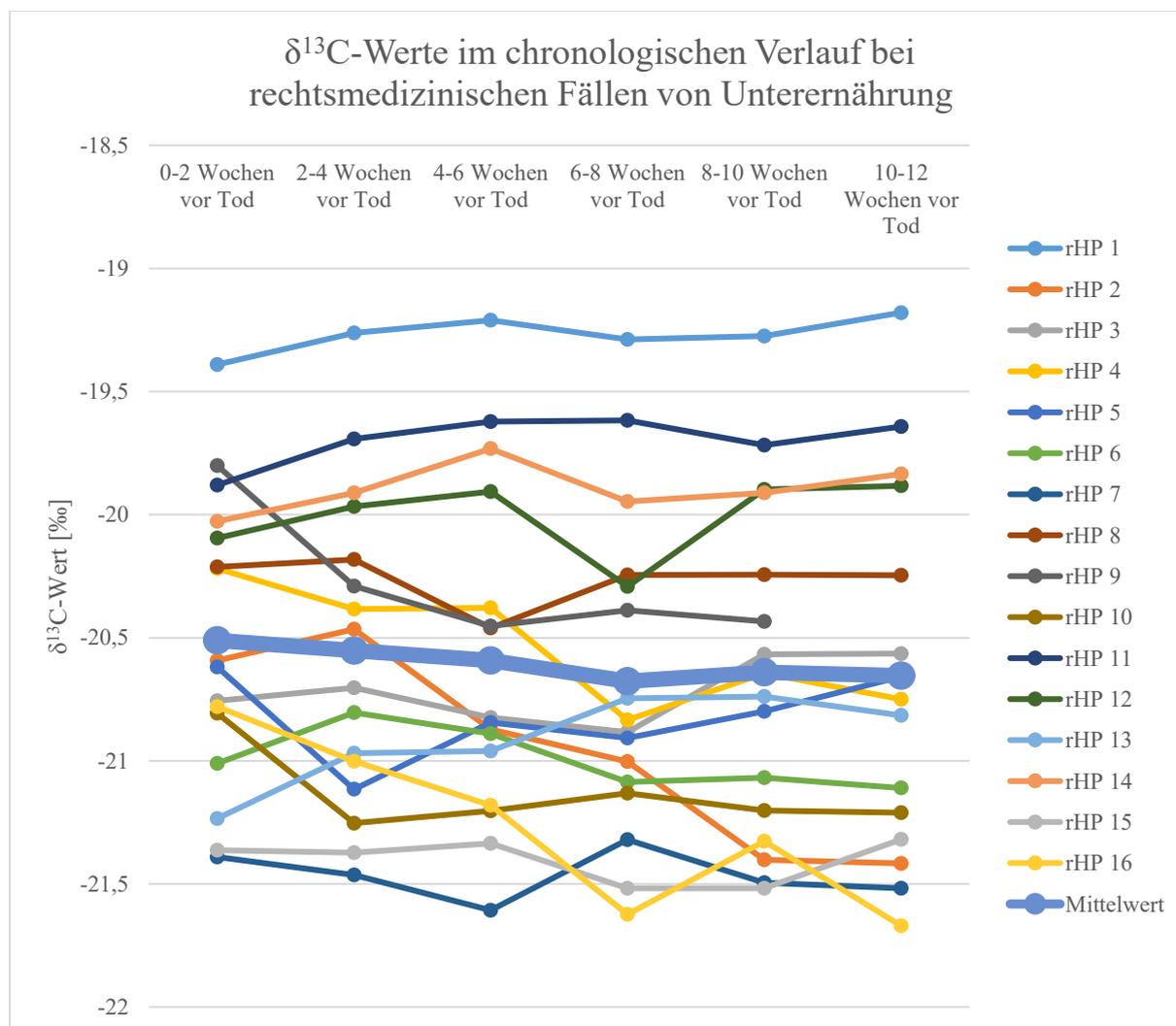


Abbildung 45: Chronologischer Verlauf der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Haarsträhnen unterernährter rechtsmedizinischer Probanden (rHP). Ein analysierter Haarabschnitt von 5 mm entspricht ca. zwei Wochen. Die Werte entsprechen dem Mittelwert aus zwei Messungen, außer bei rHP 11, 12 und 16 (hier nur eine Messung). Die größte Messunsicherheit des Massenspektrometers ist 0,09 %.

Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bewegen sich 10-12 Wochen vor dem Tod zwischen -21,67 % (Proband 16) und -19,18 % (Proband 1) und somit im Bereich von C3-Pflanzen basierter Ernährung. Obgleich es im Mittel einen leichten Anstieg der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte gibt (-20,65 % ,10-12 Wochen vor Tod‘ bis -20,51 % ,0-2 Wochen vor Tod‘), verhalten sich die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte uneinheitlich. Während die Werte der Probanden 1, 3, 11-15 perimortal abfallen, steigen sie bei der anderen Hälfte, nämlich 2, 4-10, 16, zum Tod hin an. Am stärksten steigen sie bei Proband 16 an, gefolgt von Proband 2, der auch schon durch den stärksten Anstieg der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte auffällt (vgl. Abbildung 45 und Tabelle 18). Insgesamt zeigt sich, dass diejenigen Probanden, welche den

deutlichsten Anstieg von Kohlenstoff- und Stickstoffnotationen zeigen, auch anamnestisch eine starke Unterernährung vorzuweisen haben und zudem wenig Flüssigkeit zu sich genommen haben.

Proband 2 fällt sowohl durch den stärksten Anstieg der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte als auch durch einen deutlichen Anstieg der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte auf. Zudem ist über diesen Probanden die detaillierteste Anamnese vorhanden: Es handelte sich um einen 54-jährigen Mann (1,71 m, 37 kg, BMI 12,65 kg/m^2), der als Veganer mehrmals jährlich gefastet habe und zuletzt durch übertriebenes Heilfasten und durch fehlende Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme binnen 29 Tage einen Gewichtsverlust von 70 auf 46 kg erlitten habe. Anschließend habe er wieder für fünf Tage gegessen und sei dann nach weiteren zehn Tagen Fasten verstorben. Die Ernährung der letzten sechs Wochen vor dem Tod ist daher relativ genau dokumentiert. Da der Patient keinerlei Nahrung (weder fest noch flüssig) zu sich genommen habe, kann hier von einem geschlossenen Kreislauf ausgegangen werden, bei dem Stoffwechselprodukte lediglich aus körpereigenem Material wiederverwertet werden konnten. Da dieser Fall aus den oben genannten Gründen eine Sonderrolle einnimmt, wird er im Folgenden näher vorgestellt (vgl. Abbildung 46 und Abbildung 47).

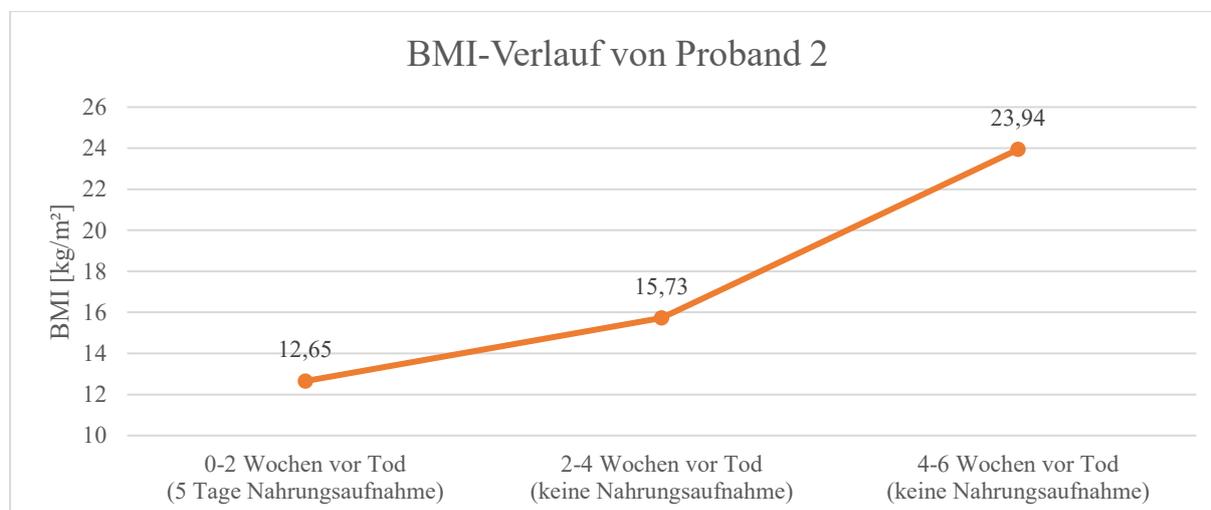


Abbildung 46: BMI-Verlauf von Proband 2. Anamnestisch ist bei einer Körperhöhe von 1,71 m bekannt, dass der Proband von 70 kg sechs Wochen vor dem Tod auf 46 kg zwei Wochen vor dem Tod bei absoluter Nahrungs- und Flüssigkeitskarenz abgemagert sei und bei anschließenden fünf Tagen Ernährung weitere 10 Tage gefastet habe, bis er mit einem Gewicht von 37 kg verstorben sei.

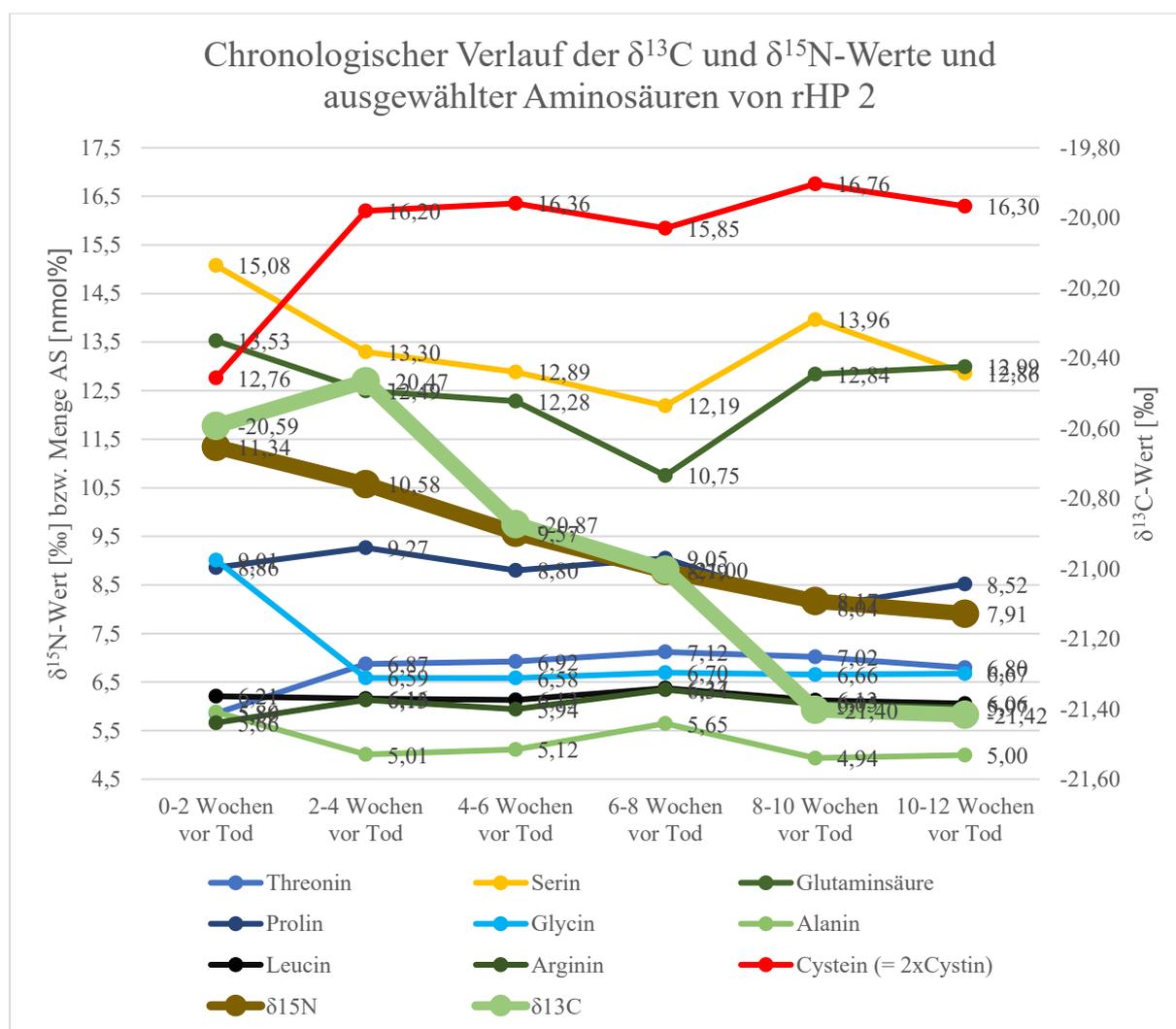


Abbildung 47: Chronologischer Verlauf ausgewählter Aminosäuren und $\delta^{13}\text{C}$ - sowie $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der rechtsmedizinischen Haarprobe 2.

Anamnestisch ist die genaue Ernährung ab sechs Wochen vor dem Tod dokumentiert. Zuvor habe der Proband jedoch auch vermehrt gefastet. Man kann beobachten, dass sowohl der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert als auch der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert ansteigen. „0-2 Wochen vor dem Tod“, als nochmals für fünf Tage eine Nahrungsaufnahme stattfand, sinkt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert wieder leicht um 0,12 ‰. Der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert steigt weiter, jedoch weniger stark wie bei absoluter Nahrungskarenz, bei der der Anstieg 1 ‰ in einem Monat betrug (vgl. Abbildung 47).

Zudem sind in Abbildung 47 die Veränderungen der Aminosäuren abgebildet, welche mit einem Anteil von über 5 % im Keratin vorkommen und damit potenziell einen Effekt auf den Isotopenwert haben können. Es zeigt sich, dass die (bedingt) essenziellen Aminosäuren Threonin und Cystein abfallen, während Alanin, Serin, Glutamat und Glycin ansteigen. Wie bereits unter Kapitel V.2.3 diskutiert, kann auch bei Proband 2 der Abfall der (bedingt) essenziellen Aminosäuren Threonin und Cystin sowie der Anstieg von Alanin den Isotopenwert

erklären. Der Abfall von Threonin perimortal lässt den $\delta^{15}\text{N}$ -Wert und den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert ansteigen. Dass der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert perimortal dennoch negativer wird kann einerseits durch den starken Abfall des relativ positiven $\delta^{13}\text{C}$ -Werts von Cystein (-17,6 ‰ nach Bichon *et al.* (2018)) erklärt werden. Andererseits kann auch der Anstieg der nicht essenziellen Aminosäuren Alanin, Glutamat und Glycin, deren Kohlenstoffgerüst aus dem Fettgewebe stammen könnte, für den negativeren $\delta^{13}\text{C}$ -Wert ursächlich sein. Für den starken $\delta^{15}\text{N}$ -Anstieg könnte zudem das relativ stark ansteigende Glutamat (Glutamin wird bei der Hydrolyse zu Glutamat desaminiert) verantwortlich sein, ebenso wie die starke Flüssigkeitsrestriktion.

Dieses Beispiel zeigt eindrucksvoll, dass für die Interpretation der Isotopenverhältnisse bei Unterernährung die Aminosäuren berücksichtigt werden müssen und auch die Herkunft der Isotope aus den verschiedenen Körpergeweben eine Rolle spielt.

V.4.2 Individualbefunde der Proben aus Hall in Tirol

Tabelle 10 listet die historischen Proben aus Hall in Tirol auf und zeigt das Ergebnis des Trichogramms. Lediglich Probe 94 zeigt eine erhöhte Rate von nicht wachsenden Haaren, während die restlichen Proben einen relativ normalen Anagenhaar-Anteil zeigen.

Tabelle 10: Beschreibung der Nagel- und Haarproben sowie Verteilung der Wachstumsphasen bei den Haarproben mit Wurzel-Erhaltung von Verstorbenen aus Hall in Tirol.

Probe	Anagen [%]	Katagen [%]	Telogen [%]	Dystrophisch [%]	Bemerkung
23 (Kopfhaare)					keine Wurzeln, ca. 2 cm
53 (Kopfhaare)					keine Wurzeln, ca. 3 cm
65 (Kopfhaare)	87,8	0	12,2	0	ca. 1,5 cm
94 (Kopfhaare)	51,3	15,8	23,1	9,8	geflochtener Zopf ca. 30 cm, Haare mit Wurzeln ca. 4 cm
102 (Fingernagel)					freier Nagel
148 (Kopfhaare)	78,3	4,8	7,2	9,6	ca. 5 cm
148 (Barthaare)	100	0	0	0	ca. 1 cm
157 (Kopfhaare)	100	0	0	0	nur 7 Haare
180 (Schamhaare)	79,5	2,3	4,5	13,6	ca. 3 cm

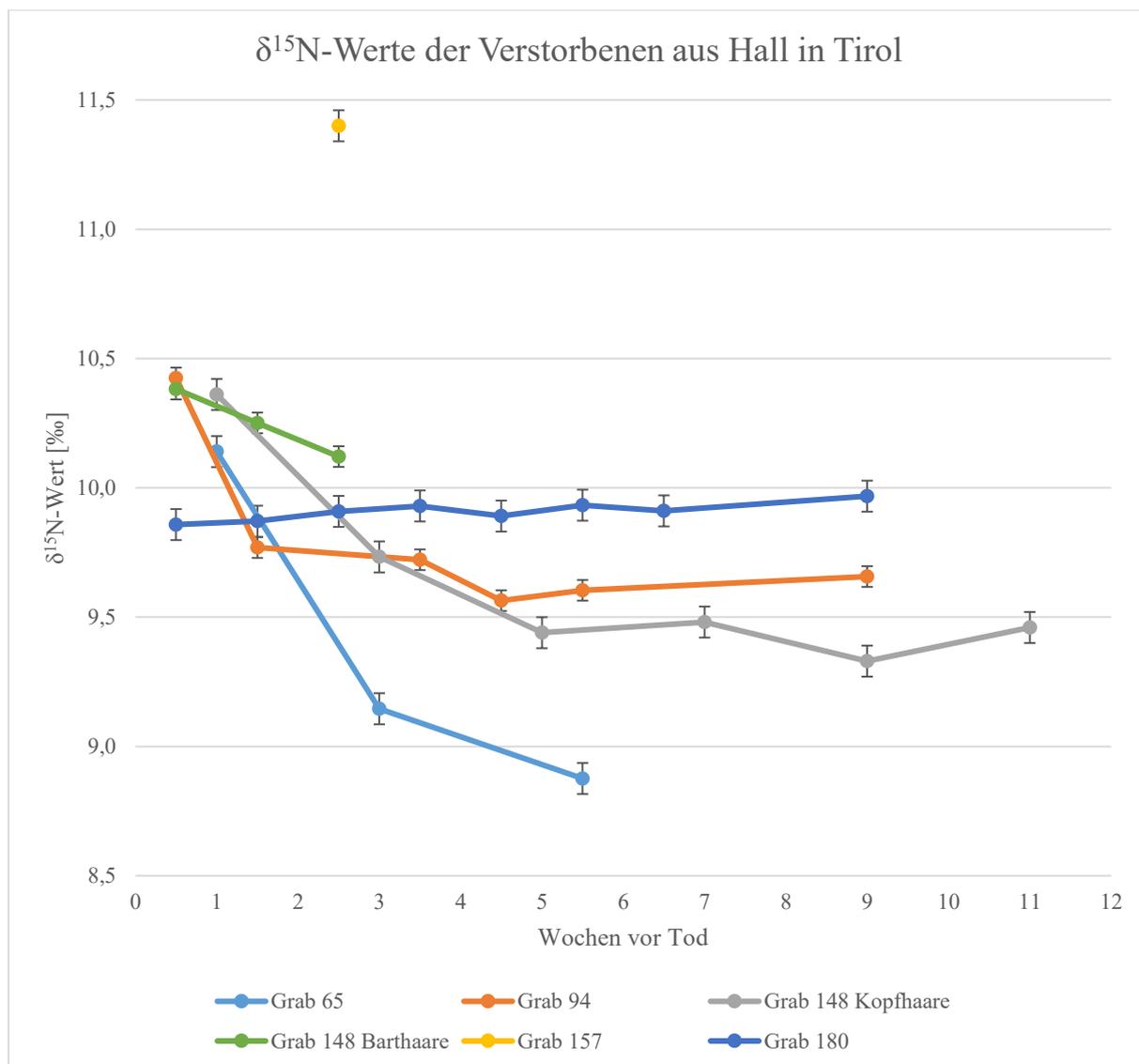


Abbildung 48: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des Haarkeratins der Gräber mit Haarwurzel-Erhaltung im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06$ ‰, bzw. $\pm 0,04$ ‰ für Grab 65 und Grab 148 Barthaare).

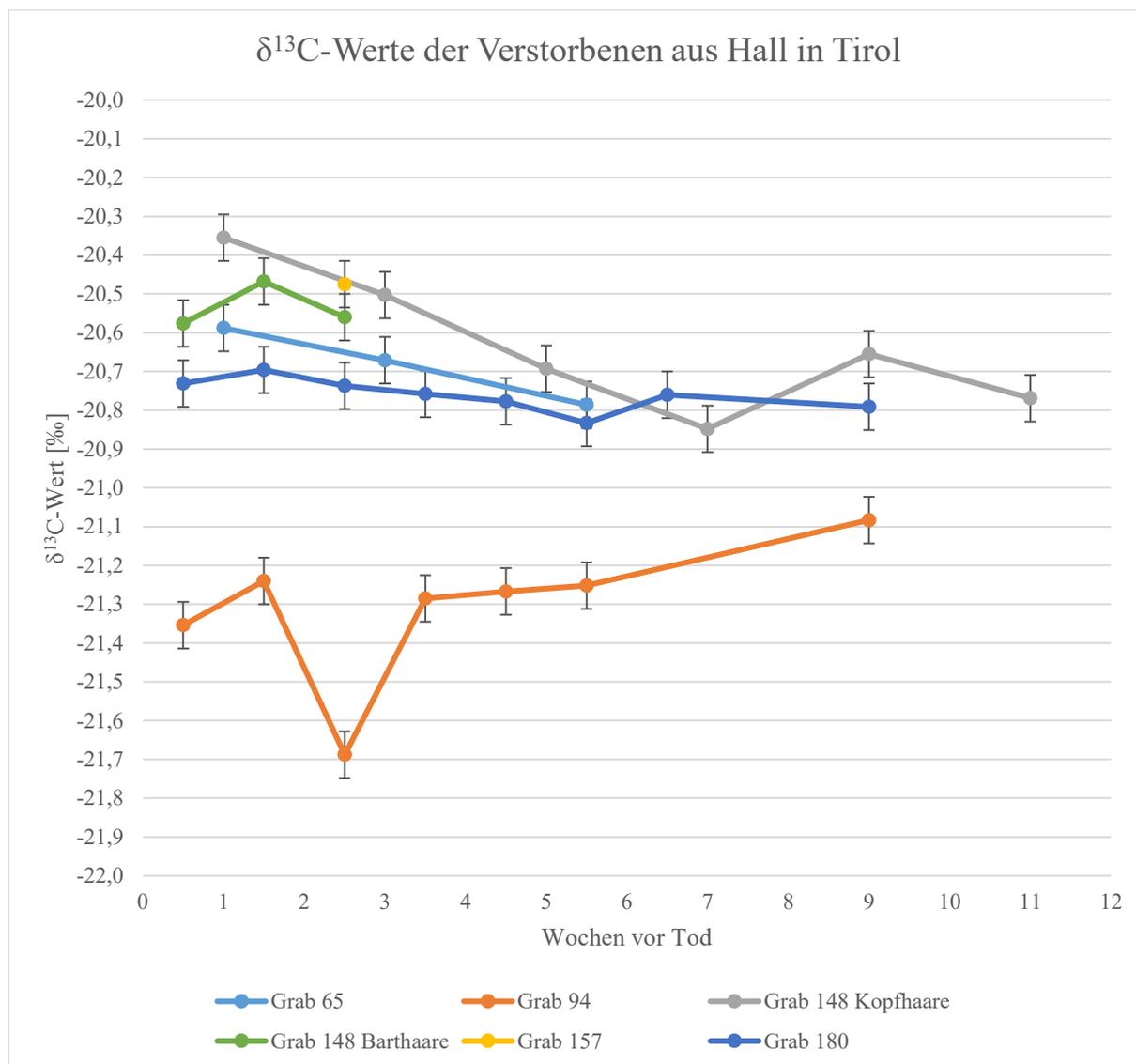


Abbildung 49: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Haarkeratins der Gräber mit Haarwurzel-Erhaltung im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06$ ‰).

Abbildung 48 und Abbildung 49 zeigen die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der historischen Proben, bei welchen eine zeitliche Zuordnung aufgrund von Haarwurzel-erhalt möglich war. Die Isotopenwerte sind gegen die Zeit in Wochen vor dem Tod aufgetragen. Tabelle 23 listet auf, welcher Haarabschnitt analysiert wurde und welcher korrespondierende prä-mortale Zeitraum seinem Wachstum zugeordnet wird. Die der Zuordnung zugrunde liegenden Wachstumsgeschwindigkeiten sind unter ‚Retrospektiver Verlauf‘ auf Seite 52 aufgeführt. Das C/N-Verhältnis von Grab 94, 102 und 148 war teilweise zu hoch. Gerade bei Grab 94 deckt sich die makro- und mikroskopische Einschätzung mit den molaren C/N-Verhältnissen. Es handelte sich um einen geflochtenen Zopf, der teils mit Pflanzenwurzeln durchzogen war. Die Abschnitte des Fingernagels (Grab 102) zeigen ebenfalls zu hohe C/N-Verhältnisse für Keratin.

Ebenso verhält es sich bei Grab 148, wobei die Barthaare bei der mikroskopischen Untersuchung unauffällig waren. Die Isotopendaten dieser drei Proben müssen also unter Vorbehalt interpretiert werden.

Bei **Grab 65** ist ein starker Anstieg der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte (ca. 1 ‰) in den letzten vier Wochen vor dem Tod zu beobachten. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte steigen leicht an, bleiben aber unter Berücksichtigung der Fehlerspannen nahezu konstant. Die Werte sechs Wochen vor dem Tod befinden sich innerhalb omnivorer Ernährungsweise. Der Verlauf der Kurven in den letzten sechs Wochen vor dem Tod deutet auf eine Unterernährung hin.

Bei **Grab 94** waren zum Zopf geflochtene Haare ohne Haarwurzeln und ca. 3 cm lange Haare mit Haarwurzeln erhalten. Bei den zum Zopf geflochtenen Haaren stellte sich nach mikroskopischer Betrachtung heraus, dass die Haare dekompositionsbedingt bereits in kleine Fragmente abgebaut waren und pflanzliche Wurzeln die Struktur des Zopfes imitierten (vgl. Abbildung 7). Einige Abschnitte zeigten ein stark erhöhtes molares C/N-Verhältnis, weshalb die Ergebnisse als nicht valide gewertet werden müssen. Bis zur fünften Woche vor dem Tod bleiben sowohl die $\delta^{15}\text{N}$ - als auch die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte relativ konstant im omnivoren Ernährungsbereich. Im letzten Monat vor dem Tod steigen die $\delta^{15}\text{N}$ -Werte um nahezu 1 ‰ an, während der steilste Anstieg in der letzten Woche vor dem Tod zu verzeichnen ist. Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte schwanken in diesem Bereich wiederum. Die entgegengesetzten Verläufe der beiden Kurven in der letzten Woche vor dem Tod zeigen das für Unterernährung typische Verhalten, welches durch die Rekrutierung der Fettreserven als Kohlenstoffgerüst der Aminosäuren erklärbar wäre. Die in der Krankenakte vermerkte Herzmuskelentartung könnte, falls es sich um eine Atrophie handelte, auch durch die finale Phase des Hungerstoffwechsels entstanden sein, in der die letzten Proteinreserven (auch in Form des Herzmuskels) mobilisiert werden.

Von **Grab 148** wurden sowohl Barthaare als auch Kopfhaare analysiert. Die Barthaare haben mit Ein-Wochen-Abschnitten eine höhere zeitliche Auflösung als die Kopfhaare mit Zwei-Wochen-Abschnitten. Dafür konnte aufgrund ihrer Länge bei den Kopfhaaren ein längerer zeitlicher Abschnitt untersucht werden. Dass die Kurven nicht exakt überlagern, kann zum einen an der unterschiedlichen zeitlichen Auflösung liegen und zum anderen daran, dass hier Literaturwerte für das durchschnittliche Haarwachstum herangezogen wurden. Es existieren aber starke inter- und intraindividuelle Unterschiede im Haarwachstum, weshalb wie vorhergehend bereits erwähnt, die zeitlichen Angaben nur grobe Richtwerte darstellen. Der Verlauf der Kurven stimmt jedoch überein und ist mit einer Unterernährung im letzten Monat vor dem Tod vereinbar. Von Werten im omnivoren Ernährungsbereich steigt der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert um

ca. 1 ‰ an und auch der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert erhöht sich gering. Das Absinken des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts in der letzten Woche vor dem Tod zeigt sich nur bei den Barthaaren. Auffallend ist, dass bei den Gräbern 148 (Kopfhaare) und 65 bei der Analyse von Zwei-Wochen-Abschnitten ein Anstieg der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ohne finalen Abfall der Werte zu verzeichnen ist. Bei den Gräbern 148 (Barthaare) und 94 wurden Ein-Wochen-Abschnitte analysiert und es zeigt sich in der letzten Woche vor dem Tod ein Abfall der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte. Dass dieser Abfall bei den Proben, welche in Zwei-Wochen-Abschnitten analysiert wurden, nicht zu sehen ist, könnte der geringeren zeitlichen Auflösung geschuldet sein.

Bei **Grab 157** konnte nur ein Abschnitt analysiert werden, dessen $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Wert die Aussage der Krankenakte stützen, dass dieses Individuum unterernährt war und der BMI während des Klinikaufenthalts von $18,7 \text{ kg/m}^2$ auf $13,7 \text{ kg/m}^2$ sank.

Bei **Grab 180** sind die $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte sehr konstant. Laut Krankenakte aß die Verstorbene selbstständig. Der BMI, welcher sich während dem über einjährigen Klinikaufenthalt von $14,9$ auf $13,2 \text{ kg/m}^2$ reduzierte, lässt aber darauf schließen, dass sie sich hypokalorisch ernährte. Laut Krankenakte verstarb die Patientin an Tuberkulose. Diese auch als Schwindsucht bezeichnete Erkrankung ist durch eine B-Symptomatik gekennzeichnet, bei der es auch zu starken Gewichtsverlusten kommt (Piper 2007). Die Isotopenwerte befinden sich im omnivoren Ernährungsbereich. Eventuell ändern sich die Werte nicht, da sie laut Krankenakte durchaus Nahrung zu sich nahm und der Gewichtsverlust auf ihre Grunderkrankung zurückzuführen ist.

Bei Grab 23 und 53 waren keine Haarwurzeln erhalten. Hier wurde von der Haarsträhne die Wuchsrichtung bestimmt und die Strähne in 1 cm Abschnitten analysiert, da eine genauere zeitliche Auflösung, durch ungenaues Justieren aufgrund fehlender Haarwurzeln, nicht möglich ist. Es kann daher lediglich die Aussage getroffen werden, dass der erste Abschnitt (Monat x) die inkorporierte Nahrung einen Monat nach dem zweiten Abschnitt (Monat x+1) widerspiegelt und der erste Abschnitt näher zum Zeitpunkt des Todes ist (aufgrund der Wuchsrichtung). Bei Grab 102 handelt es sich um einen Fingernagel (freier Nagel), weshalb nur eine grobe und weit zurückliegende zeitliche Zuordnung möglich ist (5-6 Monate). In Abbildung 50, Abbildung 51 und Abbildung 52 sind die $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte daher separat gegen die Zeit aufgetragen.

Da die Person aus **Grab 23** über zwei Jahre in der Klinik verweilte, ist es nicht unwahrscheinlich, dass die Isotopenwerte einen Zeitraum während des Klinikaufenthalts widerspiegeln. Die Stickstoffwerte steigen mit ca. 2 ‰ über fünf Monate stark an, wohingegen

die Kohlenstoffwerte stark schwanken. Die Untersuchungen von Carlich-Witjes (2016) ergaben zudem eine *Cribrra orbitalia*, die ein Indiz für Mangelerscheinungen, insbesondere einer Anämie, sein kann (Grupe *et al.* 2015). Die Isotopenwerte sind zu Beginn mit einer omnivoren Ernährungsweise vereinbar, der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert steigt dann jedoch stark an und deutet auf eine Unterernährung hin. Der in der Krankenakte beschriebene Gewichtsverlust (8 kg während des Klinikaufenthalts) mit der Diagnose Marasmus, wird durch die Isotopenwerte bestätigt. Der schwankende $\delta^{13}\text{C}$ -Verlauf könnte durch intermittierende Nahrungsaufnahme und Mobilisierung der Fettdepots bei Nahrungskarenz erklärbar sein.

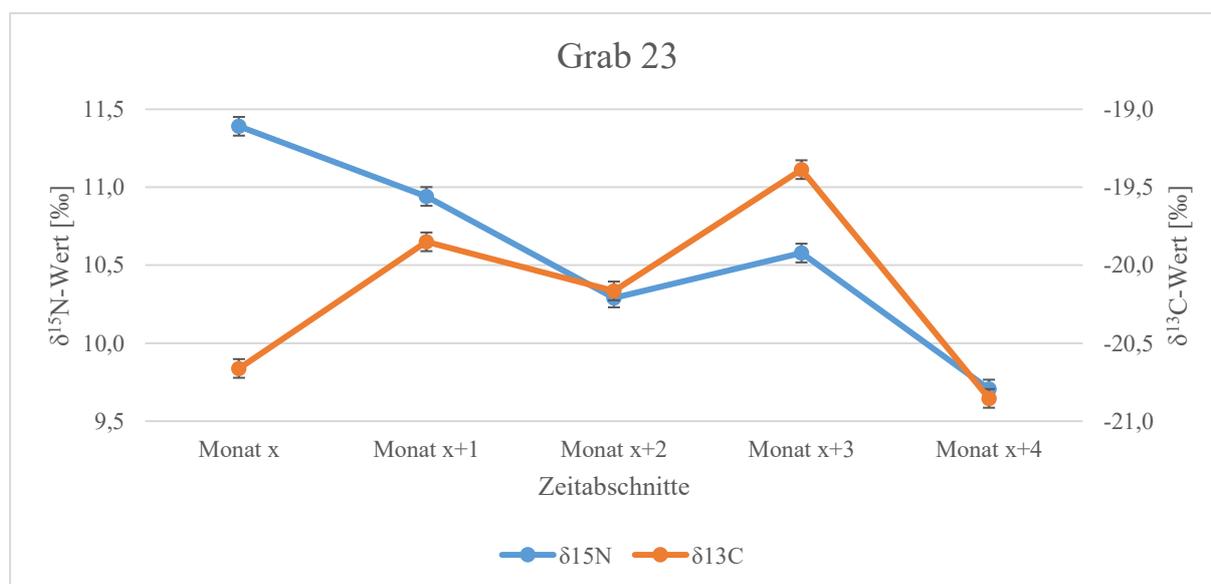


Abbildung 50: $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Haarkeratins von Grab 23 im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Da keine Haarwurzeln überliefert waren, konnte der genaue Zeitpunkt vor dem Tod nicht bestimmt werden. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06$ ‰).

Das Individuum aus **Grab 53** hatte einen Klinikaufenthalt von über fünf Jahren. Der BMI reduzierte sich dabei von 19,2 auf 18,3 kg/m^2 . Der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert steigt leicht an, während der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert nach anfänglichem Anstieg wieder abfällt. Für die Diagnose einer Unterernährung fällt der Anstieg des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts jedoch mit 0,19 ‰ zu gering aus. Es ist jedoch unklar, welchen Zeitraum die analysierte Strähne widerspiegelt. Es könnte sich auch um einen Abschnitt handeln, der lange vor dem Tod gebildet wurde. Die Werte sind vereinbar mit einer omnivoren Ernährungsweise. In der Krankenakte ist Sondennahrung in den letzten 12 Monaten vor dem Tod vermerkt. Dies könnte auch ein Grund für die relativ konstanten Kurvenverläufe von $\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$ sein.

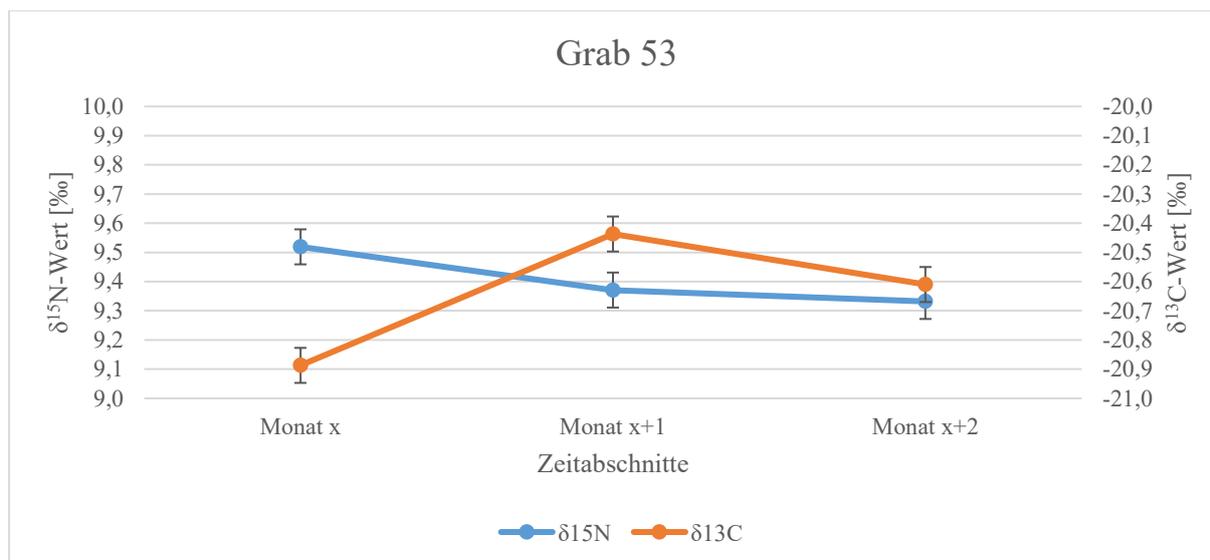


Abbildung 51: $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Haarkeratins von Grab 53 im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Da keine Haarwurzeln überliefert waren, konnte der genaue Zeitpunkt vor dem Tod nicht bestimmt werden. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06$ ‰).

Die Isotopenwerte der Person aus **Grab 102** schwanken nur gering. Der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert steigt leicht an und fällt dann ebenso wie der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert wieder ab. Da hier der Übergang vom festen zum freien Nagel analysiert wurde, liegt der Betrachtungszeitraum ca. sechs Monate vor dem Tod und somit vor dem Klinikaufenthalt, welcher nur sechs Tage betrug. Nardoto *et al.* (2006) und O'Connell *et al.* (2001) nehmen eine um ca. fünf bis sechs Monate zurückliegende Ernährung für den freien Nagel an. Zudem sind die Werte nicht valide, da sie ein deutlich erhöhtes C/N-Verhältnis haben. Nägel sind um ca. 0,65 ‰ gegenüber Haaren bezüglich des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts erhöht (O'Connell *et al.* 2001). Die Werte sind mit einer omnivoren Ernährungsweise vereinbar.

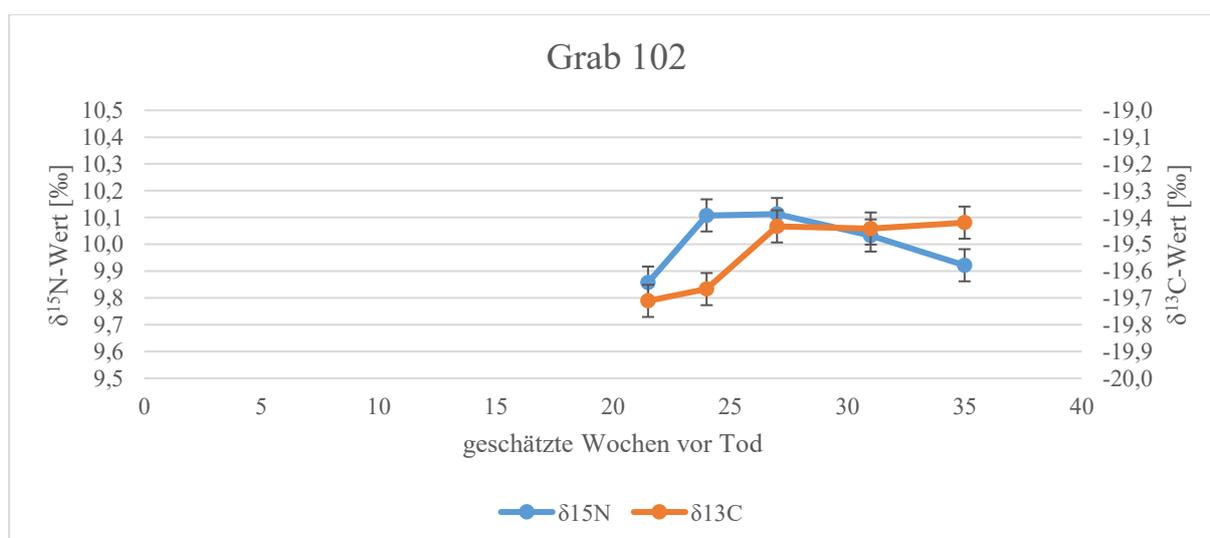


Abbildung 52: $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Fingernagel-Keratins von Grab 102 im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Aufgrund der Größe des freien Nagels wurde der gesamte Nagel interpoliert und die Zeit (in Wochen vor dem Tod) geschätzt, in welcher der freie Nagel vermutlich gebildet wurde. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06$ ‰).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass von den acht untersuchten Proben fünf sicher einen Isotopenwert zeigen, der die Ernährung kurz vor dem Tod widerspiegelt, eine Probe sicher die Ernährung vor dem Klinikaufenthalt repräsentiert, und dass es bei zwei Proben wahrscheinlich ist, dass sie während des Klinikaufenthalts synthetisiert wurden. Von den sieben Proben, die den Klinikaufenthalt repräsentieren, zeigen fünf Proben eine Isotopensignatur, die mit einer Unterernährung vereinbar ist und zwei Proben einen unauffälligen Verlauf. Obwohl die Patientenakten sicherlich mit einer gewissen Skepsis zu betrachten sind, da sie die Dokumentation der potenziellen Täter darstellen, sind die Isotopendaten durchaus mit den klinischen Angaben vereinbar, in denen oft eine Unterernährung eingeräumt wird. Inwieweit die Unterernährung im Rahmen der Grunderkrankung oder mangelnder Versorgungssituation geschuldet war, oder ob sie durch Vernachlässigung mit der Intention Hungerbegleiterkrankungen zu provozieren, herbeigeführt wurde, kann im Rahmen dieser Arbeit nicht beantwortet werden. Jedoch kann festgehalten werden, dass bei einer Mehrzahl der untersuchten Proben von einer Unterernährung kurz vor dem Tod ausgegangen werden muss. Dies deckt sich jedoch auch mit den Erkenntnissen der Kommission zur Untersuchung der Vorgänge um den Anstaltsfriedhof, wonach zu jener Zeit psychisch Kranke in der Versorgung gegenüber der restlichen Bevölkerung bzw. somatisch Erkrankten benachteiligt wurden und damit körperlicher Verfall mit Todesfolge zumindest in Kauf genommen wurde (Perz *et al.* 2014).

V.5 Fazit

Bei der Haaranalyse zur Ernährungsrekonstruktion muss zu Beginn der Untersuchungen die genaue Fragestellung geklärt werden, um die richtige Probenaufbereitung zu wählen. Möchte man eine Unterernährung diagnostizieren, sollte eine Haarsträhne mit Haarwurzeln untersucht werden, wobei das Trichogramm einen ersten Anhaltspunkt auf eine Unterernährung liefern kann. Zur Probenaufbereitung empfiehlt sich ein Waschschrift mit einer Chloroform-Methanol-Lösung (1:2 v/v) für 90 Minuten mit Mediumwechsel nach 45 Minuten und jeweils vorher und nachher ein Waschschrift für 15 Minuten im Ultraschallbad. Genauere Ergebnisse werden erzielt, indem nur wachsende Anagenhaare analysiert werden, da die Haare, welche bereits ihr Wachstum eingestellt haben, aber noch nicht ausgefallen sind, den Isotopenwert einer zurückliegenden Ernährung repräsentieren und somit den wirklichen Wert verfälschen. In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch eine Formel präsentiert, mit der, unter Annahme eines typischen Trichogramms für Unterernährung, der wahre Isotopenwert einer unsortierten Haarsträhne näherungsweise errechnet werden kann. Zur Überprüfung der Qualität der Analyse eignet sich die mikroskopische Begutachtung der Haare, das molare C/N Verhältnis und die Aminosäureanalyse. Als geeignetste Methode für die Hydrolyse wird das in der vorliegenden Arbeit modifizierte Verfahren mit 12 M HCl erachtet. Für Isotopenanalysen von Haarsträhnen hat sich gezeigt, dass ab einer Abweichung von mehr als 0,6 ‰ von einer veränderten Ernährung auszugehen ist. Dies gilt für Kohlenstoff- und Stickstoffisotope im Verlauf einer Haarsträhne bei 0,5 mm Abschnitten.

Es konnte gezeigt werden, dass beim Verhungern ein anagenes Effluvium zu einem reduzierten Anagenhaar-Anteil von 55 % führt. Bei Unterernährung steigt der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert im Mittel um ca. 1 ‰ an. Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert steigt zwar im Mittel ebenfalls um 0,14 ‰ leicht an, verhält sich jedoch individuell sehr unterschiedlich. Hier zeigt sich, dass die Vorgängerstudien auf dem richtigen Weg waren. Mekota *et al.* (2009) konnten durch *Anorexia nervosa* Patienten zeigen, dass es nach Normalisierung der Ernährung zu einem Abfall des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts und einem Anstieg des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts kommt. Neuberger (2013) vermutete im schwankenden $\delta^{13}\text{C}$ -Wert verschiedene Phasen des Hungerstoffwechsels, durch unterschiedlich ausgeprägten Fettstoffwechsel in den verschiedenen Phasen der Unterernährung. Während relativ unstrittig ist, dass der im Mittel um 1 ‰ ansteigende $\delta^{15}\text{N}$ -Wert durch den internen Trophiestufeneffekt zustande kommt, indem Muskel abgebaut wird, um Haarkeratin zu synthetisieren, konnte durch die Ergebnisse dieser Arbeit gezeigt werden, dass der schwankende $\delta^{13}\text{C}$ -Wert durch sich gegenseitig aufhebende Effekte zustande kommen könnte. Die (bedingt) essenziellen Aminosäuren unterliegen einem

schnellen Aminosäurepool, werden direkt aus dem Muskel ins Keratin eingebaut und führen zu einer Erhöhung des $\delta^{13}\text{C}$ -Werts. Sie stellen ca. die Hälfte der Kohlenstoffatome des Keratins. Die nicht essenziellen Aminosäuren werden vermutlich aus Kohlenstoffgerüsten des Fettgewebes neu synthetisiert, weshalb ihr Einbau ins Keratin den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert erniedrigt. Der Isotopenwert lässt sich auch durch die Veränderung der Aminosäuren Cystein, Threonin und Alanin erklären. Durch die Aminosäureanalyse konnte gezeigt werden, dass die Aminosäurezusammensetzung des Haarkeratins bei Unterernährung relativ stabil bleibt, dass es jedoch kurz vor dem Tod vermutlich zu einer geringen Erniedrigung (bedingt) essenzieller Aminosäuren und zu einer Erhöhung von Alanin kommt. Vermutlich führt der Mangel an (bedingt) essenziellen Aminosäuren letztendlich zur Einstellung des Wachstums der Haare. Neben den anamnestischen und klinischen Untersuchungsergebnissen kann also ein verminderter Anagenhaar-Anteil, ein Anstieg des $\delta^{15}\text{N}$ -Werts und ein perimortaler Abfall der (bedingt) essenziellen Aminosäuren zur Diagnose einer Unterernährung herangezogen werden.

Mithilfe der Zwillingsstudie konnte zudem gezeigt werden, dass die genetische Variabilität keinen signifikanten Einfluss auf die Kohlenstoff- und Stickstoffisotopie für die Ernährungsrekonstruktion hat. Die gewonnenen Erkenntnisse wurden auf die rechtsmedizinischen Probanden angewandt und durch die anamnestischen Daten bestätigt. Beim konkreten Fall der in Hall in Tirol exhumierten Verstorbenen auf dem Anstaltsfriedhof, welcher zur Zeit des Nationalsozialismus belegt wurde, konnte gezeigt werden, dass die Mehrheit der analysierten Proben für eine Unterernährung der Verstorbenen kurz vor dem Tod spricht. Durch die Angaben in den Krankenakten wurden die Ergebnisse bestätigt. Damit unterstützen die hier gewonnenen Daten die Erkenntnisse der Kommission zur Untersuchung der Vorgänge um den Anstaltsfriedhof, dass die psychiatrischen Patienten unterversorgt waren.

VI LITERATURVERZEICHNIS

- Ambrose, S. & DeNiro, M. (1986). The isotopic ecology of East African mammals. *Oecologia*, 69(3), 395-406.
- Ambrose, S. H. (1993). Isotopic analysis of paleodiets: methodological and interpretive considerations. In M. K. Sandford (Hrsg.), *Investigations of ancient human tissue: Chemical analyses in anthropology* (Bd. 10, S. 59-130). New York: Gordon and Breach Science Publishers.
- Ambrose, S. H. & Norr, L. (1993). Experimental evidence for the relationship of the carbon isotope ratios of whole diet and dietary protein to those of bone collagen and carbonate. *Prehistoric human bone: Archaeology at the molecular level*, 1-37.
- Ayliffe, L. K., Cerling, T. E., Robinson, T., West, A. G., Sponheimer, M., Passey, B. H., Hammer, J., Roeder, B., Dearing, M. D. & Ehleringer, J. R. (2004). Turnover of carbon isotopes in tail hair and breath CO₂ of horses fed an isotopically varied diet. *Oecologia*, 139(1), 11-22.
- Banaschak, S., Janßen, K., Schulte, B. & Rothschild, M. A. (2015). Rate of deaths due to child abuse and neglect in children 0–3 years of age in Germany. *International Journal of Legal Medicine*, 129(5), 1091-1096.
- Bartholomeyczik, S. (2019). Prävention von Mangelernährung in der stationären Pflege am Beispiel des DNQP-Expertenstandards „Ernährungsmanagement“. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 62(3), 304-310.
- Bartholomeyczik, S., Reuther, S., Luft, L., Van Nie, N., Meijers, J., Schols, J. & Halfens, R. (2010). Prävalenz von Mangelernährung, Maßnahmen und Qualitätsindikatoren in

- deutschen Altenpflegeheimen – erste Ergebnisse einer landesweiten Pilotstudie. *Das Gesundheitswesen*, 72(12), 868-874.
- Becker, S. (2017). Demografische Herausforderungen. In P. Bechtel, I. Smerdka-Arhelger & K. Lipp (Hrsg.), *Pflege im Wandel gestalten – Eine Führungsaufgabe: Lösungsansätze, Strategien, Chancen* (S. 17-26). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- Benda, L. (2015). *Genetischer Einfluss auf die Variabilität stabiler Isotope bei der Ernährungsrekonstruktion*. (Masterarbeit), Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Bichon, E., Sitthisack, P., Séréé-Vattier, L., Prévost, S., Schiphorst, A.-M., Pouponneau, K., Monteau, F. & Le Bizec, B. (2018). Determination of l-cysteine origin on the basis of its $\delta^{15}\text{N}$ values. *Food Chemistry*, 260, 283-288.
- Biesalski, H. K., Grimm, P. & Nowitzki-Grimm, S. (2017). *Taschenatlas Ernährung* (7. unveränderte Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Bol, R. & Pflieger, C. (2002). Stable isotope (^{13}C , ^{15}N and ^{34}S) analysis of the hair of modern humans and their domestic animals. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 16(23), 2195-2200.
- Bradfield, R. B. (1971). Protein deprivation: comparative response of hair roots, serum protein, and urinary nitrogen. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 24(4), 405-410.
- Bradfield, R. B. (1972). A rapid tissue technique for the field assessment of protein-calorie malnutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 25(7), 720-729.
- Bradfield, R. B., Cordano, A. & Graham, G. G. (1969). Hair-root adaptation to marasmus in andean indian children. *The Lancet*, 294(7635), 1395-1397.
- Braun-Falco, O. (1966). Dynamik des normalen und pathologischen Haarwachstums. *Archiv für klinische und experimentelle Dermatologie*, 227(1), 419-452.
- Burkhardt, A. (1992a). Zur Farbe und Struktur der menschlichen Iris 1. Morphologische Untersuchungen. *Anthropologischer Anzeiger*, 50(1/2), 83-126.
- Burkhardt, A. (1992b). Zur Farbe und Struktur der menschlichen Iris 2. Untersuchungen an 200 Zwillingspaaren. *Anthropologischer Anzeiger*, 50(3), 235-270.

- Butler, R., McClinchy, J., Morreale-Parker, C., Marsh, W. & Rennie, K. L. (2017). BMI calculation in older people: The effect of using direct and surrogate measures of height in a community-based setting. *Clinical Nutrition ESPEN*, 22, 112-115.
- Carabel, S., Godínez-Domínguez, E., Verísimo, P., Fernández, L. & Freire, J. (2006). An assessment of sample processing methods for stable isotope analyses of marine food webs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 336(2), 254-261.
- Carlichi-Witjes, N. (2016). *Opfer "Wilder Euthanasie"?* (Dissertation), Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Castellini, M. A. & Rea, L. D. (1992). The Biochemistry of Natural Fasting at Its Limits. *Experientia*, 48(6), 575-582.
- Clarysse, K., Kivlahan, C., Beyer, I. & Gutermuth, J. (2018). Signs of physical abuse and neglect in the mature patient. *Clinics in Dermatology*, 36(2), 264-270.
- Condon, G. (1986). *Amino acid analysis: theory and laboratory techniques*. England: LKB Biochrom.
- Cooper, C. G., Lupo, K. D., Zena, A. G., Schmitt, D. N., Richards, M. P. J. A. & Sciences, A. (2018). Stable isotope ratio analysis (C, N, S) of hair from modern humans in Ethiopia shows clear differences related to subsistence regimes.
- D'Ortenzio, L., Brickley, M., Schwarcz, H. & Prowse, T. (2015). You are not what you eat during physiological stress: Isotopic evaluation of human hair. *Am J Phys Anthropol*, 157(3), 374-388.
- Doppler, S. (2008). *Alters-, Aktivitäts- und Krankheitsmerkmale in der menschlichen Knochenmikrostruktur: Eine vergleichende Studie einer individualaltersbekannteren historischen Population mit rezenten Menschen*. (Dissertation), Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Fieguth, A., Günther, D., Kleemann, W. J. & Tröger, H. D. (2002). Lethal child neglect. *Forensic Science International*, 130(1), 8-12.
- Friedman, M. & Orraca-Tetteh, R. (1978). Hair as an index of protein malnutrition *Nutritional Improvement of Food and Feed Proteins* (S. 131-154). New York: Springer Verlag.

- Fritsch, P. (2009). *Dermatologie und Venerologie für das Studium*. Heidelberg: Springer-Verlag.
- Fry, B. (2006). *Stable isotope ecology*. New York: Springer-Verlag.
- Gabriel, E. (2016). NS-Euthanasie in Österreich von 1938–1945 (Teil 1). *psychopraxis. neuropraxis*, 19(1), 21-24.
- Gaus, W. & Muche, R. (2013). *Medizinische Statistik: Angewandte Biometrie für Ärzte und Gesundheitsberufe*. Stuttgart: Schattauer Verlag.
- Gey, M. H. (2015). *Instrumentelle Analytik und Bioanalytik: Biosubstanzen, Trennmethode, Strukturanalytik, Applikationen*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Goisser, S., Kemmler, W., Porzel, S., Volkert, D., Sieber, C. C., Bollheimer, L. C. & Freiberger, E. (2015). Sarcopenic obesity and complex interventions with nutrition and exercise in community-dwelling older persons - a narrative review. *Clinical interventions in aging*, 10, 1267-1282.
- Goldbeck, L. (2019). Missbrauch, Misshandlung und Vernachlässigung. In S. Schneider & J. Margraf (Hrsg.), *Lehrbuch der Verhaltenstherapie, Band 3: Psychologische Therapie bei Indikationen im Kindes- und Jugendalter* (S. 917-927). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- Grupe, G., Harbeck, M. & McGlynn, G. C. (2015). *Prähistorische Anthropologie*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Harkey, M. R. (1993). Anatomy and physiology of hair. *Forensic Science International*, 63(1–3), 9-18.
- Häuser, W., Schmutzer, G., Brähler, E. & Glaesmer, H. (2011). Maltreatment in childhood and adolescence: results from a survey of a representative sample of the German population. *Deutsches Arzteblatt international*, 108(17), 287-294.
- Herrmann, B., Dettmeyer, R. B., Banaschak, S. & Thyen, U. (2016). *Kindesmisshandlung: Medizinische Diagnostik, Intervention und rechtliche Grundlagen*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.

- Hinterhuber, H. (1995). *Ermordet und vergessen - Nationalsozialistische Verbrechen an psychisch Kranken und Behinderten in Nord- und Südtirol*. Innsbruck-Wien: Verlag Integrative Psychiatrie.
- Hirsch, R. D. (2016). Gewalt gegen alte Menschen. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 59(1), 105-112.
- Hobson, K. A., Alisauskas, R. T. & Clark, R. G. (1993). Stable-Nitrogen Isotope Enrichment in Avian Tissues Due to Fasting and Nutritional Stress: Implications for Isotopic Analyses of Diet. *The Condor*, 95(2), 388-394.
- Hoefs, J. (2009). *Stable isotope geochemistry* (Bd. 6). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Hohendorf, G., Rotzoll, M., Richter, P., Eckart, W. & Mundt, C. (2002). Die Opfer der nationalsozialistischen "Euthanasie-Aktion T4". *Der Nervenarzt*, 73(11), 1065-1074.
- Hoke, N. (2017). *Evaluierung frühdiagenetischer Veränderungen an Knochenmaterial zur Validierung der Daten gewonnen aus der Analyse stabiler Isotope leichter Elemente*. (Dissertation), Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Hözl, S., Åberg, G., Hedges, R., Horn, P., Hull, B., Rummel, S. & Téreygeol, F. (2007). Auf Spurensuche in der Vergangenheit - Isotope schreiben Geschichte. In G. A. Wagner (Hrsg.), *Einführung in die Archäometrie* (S. 263-277). Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag.
- Horn, F. (2018). Stoffwechsel der Proteine und Aminosäuren. In F. Horn (Hrsg.), *Biochemie des Menschen* (7. korrigierte Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Huppelsberg, J. & Walter, K. (2013). Energie- und Wärmehaushalt. In J. Huppelsberg & K. Walter (Hrsg.), *Kurzlehrbuch Physiologie* (4. aktualisierte Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Jackson, G. P., An, Y., Konstantynova, K. I. & Rashaid, A. H. B. (2015). Biometrics from the carbon isotope ratio analysis of amino acids in human hair. *Science & Justice*, 55(1), 43-50.
- Jany, P., Diekmann, K., Lipp-Thoben, H. & Lück, D. (2015). *Friseurfachkunde*. Wiesbaden: Vieweg+Teubner Verlag.

- Keys, A., Brozek, J., Henschel, A., Mickelsen, O., Taylor, H. L., Ernst, S., Angie Sturgeon, S. & Samuel M, W. (1950). *The Biology of Human Starvation*: Minneapolis: University of Minnesota Press. London: Geoffrey Cumberlege, Oxford University Press.
- Königshoff, M. & Brandenburger, T. (2018). *Kurzlehrbuch Biochemie* (4. vollständig überarbeitete Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Koolman, J. & Röhm, K.-H. (2019). Strukturproteine. In J. Koolman & K.-H. Röhm (Hrsg.), *Taschenatlas Biochemie des Menschen* (5. vollständig überarbeitete Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Krippner, K. V. (2015). *Aminosäureanalyse von Haarkeratin bei rechtsmedizinischen Fällen von Unterernährung*. (Masterarbeit), Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Latscha, H. P. & Klein, H. A. (2002). Aufbau der Atome *Anorganische Chemie: Chemie - Basiswissen I* (S. 6-32). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Lee, W.-S., Oh, T. H., Chun, S. H., Jeon, S. Y., Lee, E. Y., Lee, S., Park, W.-S. & Hwang, S. (2005). *Integral lipid in human hair follicle*. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings.
- Lehn, C. & Graw, M. (2014). Stabilisotopenanalysen an Körpergeweben von unbekanntem Personen. *Rechtsmedizin*, 24(2), 129-143.
- Löffler, G. (1983). Stoffwechsel des Organismus bei Nahrungsmangel: Wechselbeziehungen des Kohlenhydrat-, Fett- und Proteinstoffwechsels. In G. Löffler (Hrsg.), *Grundzüge der Physiologischen Chemie* (S. 138-148). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Longin, R. (1971). New Method of Collagen Extraction for Radiocarbon Dating. *Nature*, 230, 241.
- Lösche, K. (2000). *Enzyme in der Lebensmitteltechnologie*. Hamburg: Behr's Verlag.
- Lubec, G., Nauer, G., Seifert, K., Strouhal, E., Porteder, H., Szilvassy, J. & Teschler, M. (1987). Structural stability of hair over three thousand years. *Journal of Archaeological Science*, 14(2), 113-120.
- Madea, B. (2004). *Haaranalytik: Technik und Interpretation in Medizin und Recht ; [mit 66 Tabellen]*. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag.

- Madea, B. (2015). *Rechtsmedizin: Befunderhebung, Rekonstruktion, Begutachtung* (3. Auflage). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Madea, B., Ortmann, J. & Doberentz, E. (2016). Forensic aspects of starvation. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 12(3), 276-298.
- Maguire Jr., H. C. & Kligman, A. M. (1964). Hair Plucking as a Diagnostic Tool. *The Journal of Investigative Dermatology*, 43(1), 77-79.
- Mekota, A. M., Grupe, G., Ufer, S. & Cuntz, U. (2006). Serial analysis of stable nitrogen and carbon isotopes in hair: monitoring starvation and recovery phases of patients suffering from anorexia nervosa. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 20(10), 1604-1610.
- Mekota, A. M., Grupe, G., Ufer, S. & Cuntz, U. (2009). Identifying starvation episodes using stable isotopes in hair. *Rechtsmedizin*, 19(6), 431-440.
- Méndez, S., Barba, C., Lanzilotta, A. R., Kelly, R., Parra, J. L. & Coderch, L. (2008). Application of internal wool lipids to hair. *Skin Research and Technology*, 14(4), 448-453.
- Merkel, C. (2006). *"Tod den Idioten" - Eugenik und Euthanasie in juristischer Rezeption vom Kaiserreich zur Hitlerzeit* (Bd. 8). Berlin: Logos Verlag.
- Minagawa, M. (1992). Reconstruction of human diet from $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in contemporary Japanese hair: a stochastic method for estimating multi-source contribution by double isotopic tracers. *Applied Geochemistry*, 7(2), 145-158.
- Miniaci, M. C., Irace, C., Capuozzo, A., Piccolo, M., Di Pascale, A., Russo, A., Lippiello, P., Lepre, F., Russo, G. & Santamaria, R. (2016). Cysteine Prevents the Reduction in Keratin Synthesis Induced by Iron Deficiency in Human Keratinocytes. *Journal of Cellular Biochemistry*, 117(2), 402-412.
- Nardoto, G. B., Silva, S., Kendall, C., Ehleringer, J. R., Chesson, L. A., Ferraz, E. S. B., Moreira, M. Z., Ometto, J. P. H. B. & Martinelli, L. A. (2006). Geographical patterns of human diet derived from stable-isotope analysis of fingernails. *American journal of physical anthropology*, 131(1), 137-146.

- Neuberger, F., Gruber, S. & Wahl, J. (2014). Haare als Spiegel des Lebens. Isotopenanalysen an historischen Haarresten erlauben Rückschlüsse auf die Ernährungsgewohnheiten ihrer einstigen Träger. *Denkmalpflege in Baden-Württemberg – Nachrichtenblatt der Landesdenkmalpflege*, 43(1), 46-51.
- Neuberger, F. M. (2013). *Serielle Analyse stabiler Isotope an Haarkeratin zur post mortem Rekonstruktion von Lebenslaufparametern in forensisch relevanten Fällen von Unterernährung*. (Dissertation), Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Neuberger, F. M., Gruber, S. & Joachim, W. (2018). Haare als Spiegel der Ernährung: Rekonstruktion anhand stabiler Isotope. In H. Aderbauer & H. Kiebler (Hrsg.), *Die Sülchenkirche bei Rottenburg: frühmittelalterliche Kirche - alte Pfarrkirche - Friedhofskirche - bischöfliche Grablege* (S. 134-145).
- Neuberger, F. M., Jopp, E., Graw, M., Püschel, K. & Grupe, G. (2013). Signs of malnutrition and starvation - Reconstruction of nutritional life histories by serial isotopic analyses of hair. *Forensic Science International*, 226(1–3), 22-32.
- O'Connell, T. C. & Hedges, R. E. M. (1999a). Investigations into the effect of diet on modern human hair isotopic values. *American journal of physical anthropology*, 108(4), 409-425.
- O'Connell, T. C. & Hedges, R. E. M. (1999b). Isotopic Comparison of Hair and Bone: Archaeological Analyses. *Journal of Archaeological Science*, 26(6), 661-665.
- O'Connell, T. C., Hedges, R. E. M., Healey, M. A. & Simpson, A. H. R. W. (2001). Isotopic Comparison of Hair, Nail and Bone: Modern Analyses. *Journal of Archaeological Science*, 28(11), 1247-1255.
- Paddon-Jones, D. & Leidy, H. (2014). Dietary protein and muscle in older persons. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 17(1), 5-11.
- Pape, H.-C., Kurtz, A. & Silbernagl, S. (2018). *Physiologie* (8. unveränderte Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Pate, F. D. (1994). Bone chemistry and paleodiet. *Journal of Archaeological Method and Theory*, 1(2), 161-209.

- Perz, B., Albrich, T., Dietrich-Daum, E., Hinterhuber, H., Kepplinger, B., Neugebauer, W., Roilo, C., Seifert, O. & Zanesco, A. (2014). *Schlussbericht der Kommission zur Untersuchung der Vorgänge um den Anstaltsfriedhof des Psychiatrischen Krankenhauses in Hall in Tirol in den Jahren 1942 bis 1945*. Innsbruck: Universitätsverlag Wagner.
- Petzke, K. J., Boeing, H., Klaus, S. & Metges, C. C. (2005a). Carbon and nitrogen stable isotopic composition of hair protein and amino acids can be used as biomarkers for animal-derived dietary protein intake in humans. *The Journal of nutrition*, 135(6), 1515.
- Petzke, K. J., Boeing, H. & Metges, C. C. (2005b). Choice of dietary protein of vegetarians and omnivores is reflected in their hair protein ^{13}C and ^{15}N abundance. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19(11), 1392-1400.
- Petzke, K. J., Feist, T., Fleig, W. E. & Metges, C. C. (2006). Nitrogen isotopic composition in hair protein is different in liver cirrhotic patients. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 20(19), 2973-2978.
- Petzke, K. J., Fuller, B. T. & Metges, C. C. (2010). Advances in natural stable isotope ratio analysis of human hair to determine nutritional and metabolic status. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 13(5), 532-540.
- Peuke, A. D., Gessler, A. & Rennenberg, H. (2006). The effect of drought on C and N stable isotopes in different fractions of leaves, stems and roots of sensitive and tolerant beech ecotypes. *Plant Cell Environ*, 29(5), 823-835.
- Piper, W. (2007). *Innere Medizin*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Pirlich, M., Schwenk, A., Müller, M., Ockenga, J., Schmidt, S., Schütz, T., Selberg, O. & Volkert, D. J. A. E. (2003). DGEM-Leitlinie Enterale Ernährung: Ernährungsstatus. 28, 10-25.
- Pozebon, D., Scheffler, G. L. & Dressler, V. L. (2017). Elemental hair analysis: A review of procedures and applications. *Analytica Chimica Acta*, 992, 1-23.
- Raab, W. (2012a). *Haarerkrankungen in der dermatologischen Praxis*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.

- Raab, W. (2012b). *Nagelerkrankungen in Der Dermatologischen Praxis*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.
- Raghavan, M., McCullagh, J. S. O., Lynnerup, N. & Hedges, R. E. M. (2010). Amino acid $\delta^{13}\text{C}$ analysis of hair proteins and bone collagen using liquid chromatography/isotope ratio mass spectrometry: paleodietary implications from intra-individual comparisons. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24(5), 541-548.
- Rassow, J. (2016). Abbau von Triacylglycerinen und Ketonkörpern. In J. Rassow, K. Hauser, R. Netzker & R. Deutzmann (Hrsg.), *Duale Reihe Biochemie* (4. Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Rassow, J., Hauser, K., Netzker, R. & Deutzmann, R. (2012). *Duale Reihe Biochemie* (Bd. 3. Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Rauschenbach, T., Pothmann, J., Schilling, M., Teubner, C. M., Mühlmann, T., Fendrich, S., Tabel, A., Böwing-Schmalenbrock, M., Müller, S. & Kopp, K. (2019). *Kinder- und Jugendhilfereport 2018: Eine kennzahlenbasierte Analyse*. Opladen, Berlin, Toronto: Verlag Barbara Budrich.
- Rehner, G. & Daniel, H. (2010). *Biochemie der Ernährung* (3. Auflage). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Reitsema, L. J. (2015). Laboratory and field methods for stable isotope analysis in human biology. *American Journal of Human Biology*, 27(5), 593-604.
- Rhee, S. K., Reed, R. G. & Brenna, J. T. (1997). Fatty acid carbon isotope ratios in humans on controlled diets. 32(12), 1257-1263.
- Ritschl, V., Weigl, R. & Stamm, T. (2016). *Wissenschaftliches Arbeiten und Schreiben: Verstehen, Anwenden, Nutzen für die Praxis*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Roy, D. M., Hall, R., Mix, A. C. & Bonnicksen, R. (2005). Using stable isotope analysis to obtain dietary profiles from old hair: A case study from Plains Indians. *American journal of physical anthropology*, 128(2), 444-452.
- Saitoh, M., Uzuka, M. & Sakamoto, M. (1970). Human hair cycle. *Journal of Investigative Dermatology*, 54(1), 65-81.

- Saul, T. B. (2017). *An Exploration of the Effects of Taphonomy on Isotope Ratios of Human Hair*. (Dissertation), University of Tennessee.
- Schäfer, T. (2011). Statistik II. *Inferenzstatistik*. Wiesbaden: Verlag für Sozialwissenschaften.
- Schiebler, T. H. & Korf, H.-W. (2007). *Anatomie: Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie* (10. Auflage). Heidelberg: Steinkopff-Verlag.
- Schwertl, M., Auerswald, K. & Schnyder, H. (2003). Reconstruction of the isotopic history of animal diets by hair segmental analysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 17(12), 1312-1318.
- Sims, R. (1968). The measurement of hair growth as an index of protein synthesis in malnutrition. *British Journal of Nutrition*, 22, 229.
- Simsek, Ü. G. (2014). *Aufbau und Optimierung einer Methode zur Extraktion von Haaren für die Systematische Toxikologische Analyse mittels Flüssigchromatographie Quadrupol-Flugzeitmassenspektrometrie-Kopplung (LC-QTOF-MS)*. (Bachelorarbeit), Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Hamburg.
- Söhner, F., v. Cranach, M., Fangerau, H. & Becker, T. (2017). Nach der „Aktion T4“. *Der Nervenarzt*, 88(9), 1065-1073.
- Søreide, J. E., Tamelander, T., Hop, H., Hobson, K. A. & Johansen, I. (2006). Sample preparation effects on stable C and N isotope values: a comparison of methods in Arctic marine food web studies. *Marine Ecology Progress Series*, 328, 17.
- Stahel, W. (2002). *Statistische Datenanalyse: Eine Einführung für Naturwissenschaftler* (4. Auflage). Braunschweig, Wiesbaden: Vieweg-Verlag.
- Statistisches Bundesamt. (2010). Demografischer Wandel in Deutschland *Auswirkungen auf Krankenhausbehandlungen und Pflegebedürftige im Bund und in den Ländern* (Bd. 2). Wiesbaden: Statistische Ämter des Bundes und der Länder.
- Steger, F., Schmer, B., Strube, W. & Becker, T. (2012). Zwangssterilisationen nach dem Gesetz zur Verhütung erbkranken Nachwuchses. *Der Nervenarzt*, 83(3), 366-373.

- Suter, P. M. (2008). *Checkliste Ernährung* (3. aktualisierte Auflage). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Taylor, R. E., Hare, P. E., Prior, C. A., Kirner, D. L., Wan, L. & Burky, R. R. (1995). Radiocarbon Dating of Biochemically Characterized Hair. *Radiocarbon*, 27(2), 319-330.
- Thompson, A. H., Chesson, L. A., Podlesak, D. W., Bowen, G. J., Cerling, T. E. & Ehleringer, J. R. (2010). Stable isotope analysis of modern human hair collected from Asia (China, India, Mongolia, and Pakistan). *American journal of physical anthropology*, 141(3), 440-451.
- Thun-Hohenstein, L. (2017). Die Geschichte der Kinder- und Jugendpsychiatrie in Österreich. *Neuropsychiatrie*, 31(3), 87-95.
- Tieszen, L. L., Boutton, T. W., Tesdahl, K. & Slade, N. A. (1983). Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia*, 57(1), 32-37.
- Tobin, D. J. (2006). Biochemistry of human skin - our brain on the outside. *Chemical Society Reviews*, 35(1), 52-67.
- Trüeb, R. M. (2003). *Haare: Praxis Der Trichologie*. Darmstadt: Steinkopff Verlag.
- Tsugita, A. & Scheffler, J. J. (1982). A rapid method for acid hydrolysis of protein with a mixture of trifluoroacetic acid and hydrochloric acid. *European Journal of Biochemistry*, 124(3), 585-588.
- Valentini, L., Volkert, D., Schütz, T., Ockenga, J., Pirlich, M., Druml, W., Schindler, K., Ballmer, P. E., Bischoff, S. C. & Weimann, A. J. A. E. (2013). Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsmedizin (DGEM) DGEM-Terminologie in der Klinischen Ernährung. 38(02), 97-111.
- Valenzuela, L. O., O'Grady, S. P., Enright, L. E., Murtaugh, M., Sweeney, C. & Ehleringer, J. R. (2018). Evaluation of childhood nutrition by dietary survey and stable isotope analyses of hair and breath. *American Journal of Human Biology*, 30(3), 1-16.

- Van Scott, E. J., Reinertson, R. P. & Steinmuller, R. (1957). The growing hair roots of the human scalp and morphologic changes therein following amethopterin therapy. *The Journal of Investigative Dermatology*, 29(3), 197-204.
- Walli, T. (2016). „Wir kommen unter die Metzger“. Die Umsetzung des nationalsozialistischen Euthanasieprogramms im Reichsgau Tirol-Vorarlberg. *historia. scribere*(8), 253-286.
- Weiss, M., Manneberg, M., Juranville, J. F., Lahm, H. W. & Fountoulakis, M. (1998). Effect of the hydrolysis method on the determination of the amino acid composition of proteins. *Journal of chromatography A*, 795(2), 263-275.
- Westall, F. & Hesser, H. (1974). Fifteen-minute acid hydrolysis of peptides. *Analytical Biochemistry*, 61(2), 610-613.
- Williams, L. J., White, C. D. & Longstaffe, F. J. (2011). Improving stable isotopic interpretations made from human hair through reduction of growth cycle error. *American journal of physical anthropology*, 145(1), 125-136.
- Witt, M. (2007). Das Erste - kompakt. Anatomie: GK1. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Wolff, H. (2017). Erkrankungen der Haare. In G. Plewig, T. Ruzicka, R. Kaufmann & M. Hertl (Hrsg.), *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie* (S. 1-35). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Yang, F.-C., Zhang, Y. & Rheinstädter, M. C. (2014). The structure of people's hair. *PeerJ*, 2, 1-19.
- Yoshinaga, J., Minagawa, M., Suzuki, T., Ohtsuka, R., Kawabe, T., Inaoka, T. & Akimichi, T. (1996). Stable carbon and nitrogen isotopic composition of diet and hair of Gidra-speaking Papuans. *American journal of physical anthropology*, 100(1), 23-34.
- Yu, J., Yu, D.-W., Checkla, D. M., Freedberg, I. M. & Bertolino, A. P. (1993). Human Hair Keratins. *Journal of Investigative Dermatology*, 101(1), 56-59.
- Zahn, H. (1989). Das Haar aus der Sicht des Chemikers. *Chemie in unserer Zeit*, 23(5), 141-150.

Weitere Quelle:

Statistisches Bundesamt - Bevölkerungsstatistik - Bevölkerung nach Altersgruppen (ab 1950)

<https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft->

[Umwelt/Bevoelkerung/Bevoelkerungsstand/Tabellen/liste-altersgruppen.html](https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bevoelkerung/Bevoelkerungsstand/Tabellen/liste-altersgruppen.html)

(letzter Aufruf: 02.09.2019)

VII ANHANG

Tabelle 11: Übersicht der entnommenen Gewebeproben der rechtsmedizinischen Proben (A1-3: Anagenhaarsträhne 1-3, U: unsortierte Haarsträhne, F: Fett, M: Muskel, K: Knochen).

Probe	Haarsträhnen für Isotopen Messung	Haarsträhne für ASA	analyzierte Gewebe (ASA+Isotope)
1	A1, A2, U	A3	F, M, K
2	A1, A2, U	A3	F, M, K
3	A1, A2, U	A3	F, M, K
4	A1, A2, U	A3	F, M, K
5	A1, A2, U	zu wenig Material	F, M, K
6	A1, A2, U	zu wenig Material	F, M, K
7	A1, A2, U	zu wenig Material	F, M, K
8	A1, A2, U	zu wenig Material	F, M, K
9	A1, A2, U	A3	nicht beprobt
10	A1, A2, U	A3	nicht beprobt
11	A1, zu wenig Material	A3	nicht beprobt
12	A1, zu wenig Material	A3	F, M, K
13	A1, A2	A3	F, M, K
14	A1, A2	A3	nicht beprobt
15	A1, A2, zu wenig Material	zu wenig Material	F, M, K
16	A1, zu wenig Material	zu wenig Material	F, M, K

Tabelle 12: Übersicht der Haarproben der Zwillingstudie aus jeweils 20 mono- und dizygoten Zwillingspaaren (HP = Haarproben, mz = monozygot, dz = dizygot, X.1 bzw. X.2 entspricht dem jeweiligen Zwilling eines Paares, m = männlich, w = weiblich). Die alte Probennummer entspricht dem jeweiligen Zwillingpaar der Ursprungstudie. Die Tabelle wurde modifiziert nach Benda (2015).

Probe	alte Proben nr.	Geschlecht	Alter	Haarlänge [cm]	Probe	alte Proben nr.	Geschlecht	Alter	Haarlänge [cm]
HP mz 1.1	96	m	5	5,5	HP dz 1.1	102	w	6	8
HP mz 1.2	96	m	5	7,5	HP dz 1.2	102	w	6	8
HP mz 2.1	98	m	5	6	HP dz 2.1	139A	w	6	7
HP mz 2.2	98	m	5	6	HP dz 2.2	139A	w	6	8
HP mz 3.1	75	m	6	5	HP dz 3.1	195	m	7	5
HP mz 3.2	75	m	6	5	HP dz 3.2	195	w	7	8
HP mz 4.1	87	m	6	6	HP dz 4.1	159	w	7	10
HP mz 4.2	87	m	6	5	HP dz 4.2	159	m	7	4
HP mz 5.1	88	m	6	5,5	HP dz 5.1	157	w	7	7
HP mz 5.2	88	m	6	5	HP dz 5.2	157	w	7	8
HP mz 6.1	100	m	6	5,5	HP dz 6.1	101	m	8	7
HP mz 6.2	100	m	6	5,5	HP dz 6.2	101	w	8	10
HP mz 7.1	79	m	7	7	HP dz 7.1	184	w	8	10
HP mz 7.2	79	m	7	7	HP dz 7.2	184	m	8	6
HP mz 8.1	51	w	7	7	HP dz 8.1	200	w	9	12
HP mz 8.2	51	w	7	7	HP dz 8.2	200	m	9	5,5
HP mz 9.1	97	w	7	10	HP dz 9.1	194	w	9	9
HP mz 9.2	97	w	7	10	HP dz 9.2	194	w	9	9
HP mz 10.1	5	m	8	7	HP dz 10.1	177	m	9	7
HP mz 10.2	5	m	8	7	HP dz 10.2	177	m	9	5
HP mz 11.1	18	m	8	6	HP dz 11.1	193	m	10	6
HP mz 11.2	18	m	8	7	HP dz 11.2	193	w	10	7
HP mz 12.1	95	m	8	9	HP dz 12.1	164	w	10	10
HP mz 12.2	95	m	8	9	HP dz 12.2	164	w	10	10
HP mz 13.1	71	w	8	8	HP dz 13.1	122	w	10	7
HP mz 13.2	71	w	8	8	HP dz 13.2	122	w	10	9
HP mz 14.1	7	w	9	6	HP dz 14.1	127	m	10	8
HP mz 14.2	7	w	9	6	HP dz 14.2	127	w	10	10
HP mz 15.1	10	w	9	10	HP dz 15.1	175	m	11	7
HP mz 15.2	10	w	9	9,5	HP dz 15.2	175	w	11	10
HP mz 16.1	11	m	9	5	HP dz 16.1	168	w	11	10
HP mz 16.2	11	m	9	7	HP dz 16.2	168	m	11	5
HP mz 17.1	27	w	9	10	HP dz 17.1	155	w	11	8
HP mz 17.2	27	w	9	10	HP dz 17.2	155	m	11	6
HP mz 18.1	48	m	9	8	HP dz 18.1	121	m	11	6
HP mz 18.2	48	m	9	7	HP dz 18.2	121	m	11	8
HP mz 19.1	67	w	9	7	HP dz 19.1	125	m	12	7
HP mz 19.2	67	w	9	8	HP dz 19.2	125	m	12	7
HP mz 20.1	99	m	9	7	HP dz 20.1	109	m	13	6
HP mz 20.2	99	m	9	7	HP dz 20.2	109	m	13	6

Tabelle 13: Die im SYKAM Kalibrierstandard (A9906) enthaltenen Aminosäuren und die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Abkürzungen. Die Aminosäure Cystein ist nicht im Standard enthalten. Der Wert wurde näherungsweise durch den doppelten Cystinwert bestimmt. Die jeweilige Konzentration der Aminosäuren im Kalibrierstandard beträgt 1 $\mu\text{mol/ml}$ (bei Urea 10 $\mu\text{mol/ml}$).

Aminosäuren die im Haarkeratin vorkommen	Abkürzung
Asparaginsäure	asp
Threonin	thr
Serin	ser
Glutaminsäure	glu
Prolin	pro
Glycin	gly
Alanin	ala
Valin	val
Methionin	met
Isoleucin	ile
Leucin	leu
Tyrosin	tyr
Phenylalanin	phe
Histidin	his
Lysin	lys
Arginin	arg
Cystein	cys
Sonstige Aminosäuren im SYKAM Kalibrierstandard	Abkürzung
Phosphoserin	pps
Taurin	tau
Phosphoethanolamin	pea
Urea	urea
Hydroxyprolin	hyp
Hydroxylysin	hyl
Asparagin	asn
α -Aminoadipinsäure	aaa
Citrullin	cit
α -Aminobuttersäure	abu
Cystin	(cys) ²
β -Alanin	b-ala
β -Aminoisobuttersäure	baib
γ -Aminobuttersäure	gaba
1-Methylhistidin	1-M-his
3-Methylhistidin	3-M-his
Carnosin	car
Tryptophan	trp
Ornithin	orn
Ammoniak	NH ₃

Tabelle 14: Verteilung der Wachstumsphasen der rechtsmedizinischen Probanden nach mikroskopischer Untersuchung der Haarwurzelanatomie.

Probe	Anagen [%]	Katagen [%]	Telogen [%]	Dystrophisch [%]	Anteil abgerissener Haare [%]	Haare absolut
1	66,7	13,9	12,5	6,9	12,7	165
2	46,2	24,4	20,7	8,6	4,7	279
3	36,7	24,3	35,6	3,4	15,9	421
4	41,2	38,8	18,8	1,2	27,0	226
5	86,4	7,4	6,2	0	10,0	90
6	46,2	24,9	28,9	0	4,9	182
7	47,0	35,7	5,9	11,4	14,4	216
8	31,3	51,9	5,0	11,9	37,5	256
9	45,2	23,2	20,1	11,6	23,7	464
10	88,4	6,2	2,5	2,9	20,7	304
11	69,3	6,5	12,6	11,6	18,9	265
12	59,0	13,8	18,0	9,2	9,6	240
13	69,6	9,4	9,4	11,5	22,0	245
14	52,5	8,2	26,0	13,3	9,2	415
15	57,9	33,3	0	8,8	10,9	128
16	29,5	51,6	4,9	13,9	9,0	134
MW	54,6	23,3	14,2	7,9	15,7	Summe 4030
SD	17,8	15,4	10,3	4,8	8,8	
2SD	35,5	30,7	20,6	9,7	17,7	

Tabelle 15: Isotopenwerte in ‰ sowie prozentualer Anteil für Kohlenstoff und Stickstoff im Haarstandard nach verschieden langen Einwirkzeiten (30, 60, 90, 120, und 150 Minuten) bei zwei verschiedenen Waschlösungen (Chloroform:Methanol im Verhältnis 1:2 (v/v) bzw. 2:1 (v/v)). Die Messungenauigkeit des Massenspektrometers beträgt 0,07 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$, 0,05 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$, 0,2 ‰ für %C und 0,08 ‰ für %N.

Probe Haarstandard	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	Anteil C [%]	$\delta^{15}\text{N}$ [‰]	Anteil N [%]
C:M (1:2) 30 min	-20,82	39,4	8,95	13,3
C:M (1:2) 60 min	-20,63	48,6	8,95	15,9
C:M (1:2) 90 min	-20,36	49,2	9,05	16,5
C:M (1:2) 120 min	-20,40	44,2	8,80	14,8
C:M (1:2) 150 min	-20,57	43,4	9,14	14,7
C:M (2:1) 30 min	-20,70	61,9	9,03	20,9
C:M (2:1) 60 min	-20,81	50,1	8,85	16,9
C:M (2:1) 90 min	-20,35	49,3	9,07	16,7
C:M (2:1) 120 min	-20,60	51,3	9,02	17,4
C:M (2:1) 150 min	-20,43	44,0	8,96	14,9

Tabelle 16: Isotopenwerte in ‰ sowie prozentualer Anteil für Kohlenstoff und Stickstoff im Haarstandard für je 20 ungewaschene und gewaschene Proben (mit Chloroform:Methanol im Verhältnis 1:2 (v/v) für 90 Minuten). Die Messungenauigkeit des Massenspektrometers beträgt 0,07 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$, 0,1 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$, 0,09 ‰ für %C und 0,14 ‰ für %N.

Haarstandard gewaschen					Haarstandard ungewaschen				
Probe Haarstandard	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	Anteil C [%]	$\delta^{15}\text{N}$ [‰]	Anteil N [%]	Probe Haarstandard	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	Anteil C [%]	$\delta^{15}\text{N}$ [‰]	Anteil N [%]
1	-21,01	55,8	8,91	18,3	1	-21,07	37,8	9,12	12,0
2	-21,00	46,8	8,77	15,2	2	-21,19	42,7	9,09	13,6
3	-21,09	42,6	8,92	14,1	3	-20,98	45,7	9,10	14,7
4	-20,86	56,9	8,98	19,1	4	-21,38	46,1	9,21	14,6
5	-20,89	42,4	8,72	14,1	5	-21,51	48,2	9,15	15,2
6	-20,99	41,2	9,02	13,8	6	-21,21	47,6	9,06	15,2
7	-20,90	42,6	8,83	14,2	7	-21,24	55,8	9,13	17,7
8	-20,90	42,8	8,62	14,2	8	-21,26	48,0	9,24	15,1
9	-20,89	38,3	8,69	12,6	9	-21,25	49,2	9,15	15,7
10	-20,96	43,7	9,02	14,5	10	-21,20	48,0	9,17	15,2
11	-21,06	43,3	9,23	14,9	11	-21,71	46,8	9,15	14,9
12	-20,92	39,4	9,24	13,3	12	-21,38	46,9	9,15	14,8
13	-20,85	42,8	9,09	14,4	13	-21,47	46,9	9,06	14,9
14	-21,04	37,8	9,28	13,3	14	-20,89	48,0	9,18	15,4
15	-21,06	41,1	9,18	13,7	15	-21,37	46,4	9,20	14,7
16	-21,05	38,8	8,96	13,1	16	-21,31	54,5	9,37	17,3
17	-21,09	40,9	8,99	13,9	17	-21,45	42,1	8,57	13,2
18	-20,95	42,5	9,24	14,7	18	-21,44	53,0	9,08	16,7
19	-21,06	40,8	9,32	14,1	19	-21,46	44,9	8,53	14,0
20	-21,07	41,5	9,15	14,3	20	-21,41	50,2	8,63	15,7
MW	-20,98	43,10	9,01	14,48	MW	-21,31	47,44	9,07	15,02
SD	0,08	4,98	0,21	1,57	SD	0,19	4,10	0,22	1,30
2SD	0,16	9,96	0,42	3,15	2SD	0,38	8,21	0,45	2,61

Tabelle 17: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der rechtsmedizinischen Haarproben in ‰. Der größte Messfehler des Massenspektrometers der verschiedenen Messreihen liegt bei 0,07 ‰.

Probe	Messreihe	0-2 Wochen vor Tod	2-4 Wochen vor Tod	4-6 Wochen vor Tod	6-8 Wochen vor Tod	8-10 Wochen vor Tod	10-12 Wochen vor Tod
rHP 1	Anagen 1	10,41	10,13	10,13	10,02	10,19	10,19
	Anagen 2	10,34	9,83	9,90	9,73	10,00	9,98
	MW Anagen	10,38	11,34	11,34	10,15	11,71	9,09
	Unsortiert	10,53	10,41	9,98	10,37	10,41	10,35
rHP 2	Anagen 1	11,49	10,68	9,68	8,77	8,18	8,01
	Anagen 2	11,20	10,47	9,46	8,81	8,15	7,81
	MW Anagen	11,34	10,58	9,57	8,79	8,17	7,91
	Unsortiert	10,20	9,74	8,61	8,60	7,91	7,95
rHP 3	Anagen 1	10,69	10,24	10,14	9,86	9,88	10,02
	Anagen 2	9,62	10,67	10,09	9,97	9,67	9,70
	MW Anagen	10,15	10,46	10,11	9,92	9,78	9,86
	Unsortiert	9,60	9,89	10,42	9,87	9,73	9,62
rHP 4	Anagen 1	11,41	10,86	9,66	9,27	9,56	9,42
	Anagen 2	12,00	11,09	10,15	9,77	9,53	9,45
	MW Anagen	11,71	10,98	9,91	9,52	9,55	9,44
	Unsortiert	11,04	10,38	9,70	9,38	9,33	9,42
rHP 5	Anagen 1	9,16	8,46	8,63	8,45	8,80	9,22
	Anagen 2	9,03	8,19	8,66	8,31	8,52	8,79
	MW Anagen	9,09	8,33	8,64	8,38	8,66	9,00
	Unsortiert	8,54	7,71	7,84	8,96	8,21	8,92
rHP 6	Anagen 1	11,29	10,09	9,99	9,33	9,09	9,11
	Anagen 2	11,22	10,01	9,69	9,13	8,55	8,84
	MW Anagen	11,25	10,05	9,84	9,23	8,82	8,98
	Unsortiert	10,42	9,96	9,30	9,10	9,14	9,00
rHP 7	Anagen 1	11,85	10,67	10,50	9,43	9,78	9,40
	Anagen 2	11,86	10,76	10,29	9,92	9,74	9,45
	MW Anagen	11,86	10,72	10,39	9,68	9,76	9,43
	Unsortiert	10,76	10,48	9,77	9,81	9,46	9,09
rHP 8	Anagen 1	10,79	10,68	10,53	10,26	10,58	9,87
	Anagen 2	11,25	10,49	10,50	10,68	9,92	10,28
	MW Anagen	11,02	10,59	10,51	10,47	10,25	10,08
	Unsortiert	11,02	11,02	10,82	10,72	10,36	10,87
rHP 9	Anagen 1	11,12	10,18	10,00	9,81	9,68	
	Anagen 2	11,99	10,20	9,99	9,88	9,79	
	MW Anagen	11,56	10,19	10,00	9,85	9,73	
	Unsortiert	10,74	10,13	10,00	9,82	9,65	
rHP 10	Anagen 1	8,93	8,33	8,20	8,17	8,11	8,04
	Anagen 2	9,11	8,51	8,18	8,16	7,99	7,97
	MW Anagen	9,02	8,42	8,19	8,17	8,05	8,01
	Unsortiert	8,78	8,29	8,17	8,27	8,24	8,24
rHP 11	Anagen 1	8,56	8,10	8,89	8,99	8,36	8,26
	Anagen 2						
	MW Anagen	8,56	8,10	8,89	8,99	8,36	8,26
rHP 12	Anagen 1	9,79	9,88	9,54	9,63	9,72	9,54
	Anagen 2						
	MW Anagen	9,79	9,88	9,54	9,63	9,72	9,54
rHP 13	Anagen 1	9,71	9,38	9,31	9,50	9,48	9,36
	Anagen 2	9,62	9,30	9,34	9,74	9,41	9,31
	MW Anagen	9,67	9,34	9,32	9,62	9,45	9,34
rHP 14	Anagen 1	7,83	7,95	7,81	8,10	7,96	8,08
	Anagen 2	7,76	7,94	7,65	7,88	7,91	7,96
	MW Anagen	7,80	7,94	7,73	7,99	7,94	8,02
rHP 15	Anagen 1	9,07	9,47	9,49	9,41	9,26	9,68
	Anagen 2	9,30	9,48	10,15	9,43	9,63	9,44
	MW Anagen	9,18	9,47	9,82	9,42	9,44	9,56
rHP 16	Anagen 1	10,09	9,56	9,78	9,34	8,91	8,90
	Anagen 2						
	MW Anagen	10,09	9,56	9,78	9,34	8,91	8,90

Tabelle 18: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der rechtsmedizinischen Haarproben in ‰. Der größte Messfehler des Massenspektrometers der verschiedenen Messreihen liegt bei 0,09 ‰.

Probe	Messreihe	0-2 Wochen vor Tod	2-4 Wochen vor Tod	4-6 Wochen vor Tod	6-8 Wochen vor Tod	8-10 Wochen vor Tod	10-12 Wochen vor Tod
rHP 1	Anagen 1	-19,17	-19,31	-19,30	-19,32	-19,34	-19,25
	Anagen 2	-19,62	-19,21	-19,12	-19,26	-19,21	-19,11
	MW Anagen	-19,39	-19,26	-19,21	-19,29	-19,27	-19,18
	Unsortiert	-19,43	-19,34	-19,32	-19,22	-19,27	-19,35
rHP 2	Anagen 1	-20,63	-20,52	-20,91	-21,01	-21,39	-21,43
	Anagen 2	-20,56	-20,41	-20,83	-21,00	-21,41	-21,41
	MW Anagen	-20,59	-20,47	-20,87	-21,00	-21,40	-21,42
	Unsortiert	-21,38	-21,22	-21,04	-21,19	-21,43	-21,36
rHP 3	Anagen 1	-20,55	-20,55	-20,64	-20,81	-20,68	-20,72
	Anagen 2	-20,96	-20,86	-21,01	-20,96	-20,46	-20,41
	MW Anagen	-20,76	-20,70	-20,82	-20,88	-20,57	-20,56
	Unsortiert	-20,24	-21,10	-20,41	-20,48	-20,97	-20,69
rHP 4	Anagen 1	-20,05	-20,32	-20,32	-20,50	-20,60	-20,59
	Anagen 2	-20,39	-20,45	-20,43	-21,17	-20,69	-20,91
	MW Anagen	-20,22	-20,38	-20,38	-20,83	-20,64	-20,75
	Unsortiert	-19,99	-19,69	-20,28	-20,19	-20,44	-20,55
rHP 5	Anagen 1	-20,37	-20,90	-20,76	-20,93	-20,82	-20,60
	Anagen 2	-20,87	-21,33	-20,93	-20,88	-20,78	-20,71
	MW Anagen	-20,62	-21,12	-20,84	-20,91	-20,80	-20,66
	Unsortiert	-20,72	-21,14	-21,10	-21,21	-21,21	-21,08
rHP 6	Anagen 1	-21,08	-20,95	-21,09	-21,14	-21,14	-21,14
	Anagen 2	-20,95	-20,65	-20,69	-21,04	-21,00	-21,08
	MW Anagen	-21,01	-20,80	-20,89	-21,09	-21,07	-21,11
	Unsortiert	-20,98	-20,74	-20,94	-20,96	-20,90	-21,10
rHP 7	Anagen 1	-21,48	-21,53	-21,67	-21,18	-21,45	-21,56
	Anagen 2	-21,30	-21,40	-21,55	-21,46	-21,54	-21,48
	MW Anagen	-21,39	-21,46	-21,61	-21,32	-21,49	-21,52
	Unsortiert	-21,14	-21,23	-21,40	-21,34	-21,30	-20,88
rHP 8	Anagen 1	-20,22	-20,09	-20,48	-20,24	-20,16	-20,23
	Anagen 2	-20,21	-20,28	-20,45	-20,25	-20,32	-20,26
	MW Anagen	-20,21	-20,18	-20,46	-20,24	-20,24	-20,25
	Unsortiert	-20,01	-19,90	-19,91	-20,09	-19,85	-19,98
rHP 9	Anagen 1	-19,81	-20,32	-20,44	-20,39	-20,37	
	Anagen 2	-19,79	-20,26	-20,47	-20,39	-20,50	
	MW Anagen	-19,80	-20,29	-20,45	-20,39	-20,43	
	Unsortiert	-19,89	-20,58	-20,32	-20,35	-20,42	
rHP 10	Anagen 1	-20,69	-20,92	-21,46	-21,30	-21,02	-21,46
	Anagen 2	-20,92	-21,59	-20,95	-20,96	-21,38	-20,96
	MW Anagen	-20,81	-21,25	-21,20	-21,13	-21,20	-21,21
	Unsortiert	-21,33	-21,58	-21,53	-22,37	-21,54	-21,53
rHP 11	Anagen 1	-19,88	-19,69	-19,62	-19,62	-19,72	-19,64
	Anagen 2						
	MW Anagen	-19,88	-19,69	-19,62	-19,62	-19,72	-19,64
rHP 12	Anagen 1	-20,10	-19,97	-19,91	-20,29	-19,90	-19,88
	Anagen 2						
	MW Anagen	-20,10	-19,97	-19,91	-20,29	-19,90	-19,88
rHP 13	Anagen 1	-21,08	-20,73	-20,73	-20,42	-20,44	-20,57
	Anagen 2	-21,39	-21,21	-21,19	-21,07	-21,04	-21,06
	MW Anagen	-21,23	-20,97	-20,96	-20,75	-20,74	-20,82
rHP 14	Anagen 1	-20,26	-20,20	-19,67	-20,14	-20,16	-19,79
	Anagen 2	-19,79	-19,62	-19,80	-19,76	-19,66	-19,88
	MW Anagen	-20,03	-19,91	-19,73	-19,95	-19,91	-19,84
rHP 15	Anagen 1	-21,36	-21,48	-21,41	-21,70	-21,55	-21,37
	Anagen 2	-21,37	-21,26	-21,26	-21,33	-21,48	-21,27
	MW Anagen	-21,36	-21,37	-21,33	-21,52	-21,52	-21,32
rHP 16	Anagen 1	-20,78	-21,00	-21,18	-21,62	-21,33	-21,67
	Anagen 2						
	MW Anagen	-20,78	-21,00	-21,18	-21,62	-21,33	-21,67

Tabelle 19: Aminosäurezusammensetzung von verschiedenen Gewebeproteinen. Angegeben ist der Anteil der Aminosäuren am Gesamtprotein in nmol% mit der Standardabweichung (SD) in der darauffolgenden Spalte (Mittelwert aus zehn rechtsmedizinischen Probanden). Der Anteil an Cystein entspricht dem zweifachen des analysierten Cystins. Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod, Haar STD entspricht dem internen Laborstandard (aus 38 Analysen). Die Muskel- und Kollagen-Werte sind Mittelwerte aus zwölf rechtsmedizinischen Probanden. Zusätzlich sind Literaturwerte für Haare und Knochenkollagen zum Vergleich angegeben.

Aminosäuren im Haarkeratin	Haar perimortal	SD	Haar t-3M	SD	Haar STD (aus Krippner (2015))	SD	Haar (aus Yu <i>et al.</i> (1993))	Muskel	SD	Kollagen	SD	Kollagen (aus Ambrose (1993))
Asparaginsäure	4,32	0,20	4,24	0,22	4,61	0,38	9,3	6,40	0,77	2,23	0,42	4,4
Threonin	6,17	0,82	6,67	0,42	6,87	0,39	5,5	5,57	0,42	0,90	0,23	1,7
Serin	13,98	3,00	14,09	1,50	14,35	1,02	9,0	4,82	0,63	2,65	0,58	3,6
Glutaminsäure	13,47	1,02	12,91	0,69	13,57	0,60	16,6	6,52	3,62	4,93	1,85	7,4
Prolin	8,68	0,66	8,43	0,14	8,28	0,91	3,8	7,42	1,55	13,79	1,91	13
Glycin	8,17	1,29	7,24	0,53	7,71	1,06	5,2	14,60	2,90	36,01	2,21	33,4
Alanin	5,99	3,66	5,36	0,51	5,89	0,54	6,9	11,74	1,30	15,21	1,13	11,2
Valin	4,19	0,58	4,57	0,48	4,01	0,36	6,1	4,43	0,52	1,74	0,31	2,5
Methionin	0,51	0,19	0,47	0,15	0,44	0,17	0,4	2,03	0,34	0,17	0,12	0,5
Isoleucin	2,58	1,05	3,13	0,68	2,44	1,13	3,7	3,39	0,57	0,42	0,26	0,9
Leucin	6,28	0,49	6,06	0,30	6,29	0,38	10,2	8,34	0,86	2,45	0,32	2,3
Tyrosin	1,29	0,44	1,42	0,49	1,97	0,25	2,5	2,54	0,29	0,81	0,73	0,3
Phenylalanin	2,11	0,18	2,02	0,13	2,19	0,16	2,0	3,48	0,27	1,13	0,42	1,2
Histidin	0,83	0,07	0,80	0,04	0,88	0,10	0,7	1,70	0,19	0,26	0,05	0,5
Lysin	2,43	0,26	2,42	0,19	2,31	0,18	3,5	7,72	0,87	2,86	0,26	2,7
Arginin	5,63	0,66	5,36	0,72	6,13	0,51	7,2	8,70	1,10	4,75	0,58	5,0
Cystein	13,49	2,99	15,73	1,63	12,06	1,95	7,6	0,72	0,26			
Tryptophan								0,26	0,05			
Hydroxyprolin										9,63	2,20	8,9
Hydroxylysin										0,34	0,14	0,5

Tabelle 20: Isotopenwerte sowie prozentualer Anteil von Kohlenstoff und Stickstoff von Gewebeproben (Knochen, Muskel und Fett) der rechtsmedizinischen Proben von unterernährten Probanden. Da im Fettgewebe sehr wenig bzw. kein Stickstoff vorhanden ist, werden hier keine $\delta^{15}\text{N}$ -Werte angegeben. Bei rP 1 und 4 konnte kein Isotopenwert analysiert werden (wegen zu geringer Menge an subkutanem Fettgewebe bei Unterernährung). Die größte Messgenauigkeit des Massenspektrometers beträgt für $\delta^{13}\text{C}$ 0,1 ‰, für Anteil C 0,2 %, für $\delta^{15}\text{N}$ 0,07 ‰ und für Anteil N 0,14 %.

rechtsmedizinische Probe (rP)		1	2	3	4	5	6	7	8	12	13	15	16	MW	SD
Knochen	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	-19,88	-20,09	-20,45	-20,90	-20,50	-20,44	-19,89	-19,00	-20,05	-20,30	-20,33	-20,26	-20,17	0,47
	Anteil C [%]	42,57	48,72	43,36	37,74	43,11	36,69	54,59	54,17	41,35	43,35	50,28	51,95	45,66	6,11
	$\delta^{15}\text{N}$ [‰]	11,08	10,18	11,02	10,55	10,68	11,18	11,34	12,86	11,43	11,17	9,63	11,00	11,01	0,78
	Anteil N [%]	15,61	17,79	15,73	14,33	16,15	15,27	20,25	19,78	15,38	15,91	19,37	19,08	17,05	2,07
Muskel	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	-21,67	-22,10	-21,23	-21,70	-22,49	-22,31	-21,85	-20,67	-20,63	-21,58	-21,89	-22,02	-21,68	0,58
	Anteil C [%]	42,22	48,36	45,31	46,14	55,72	48,20	58,14	68,75	47,96	46,02	56,13	67,49	52,54	8,74
	$\delta^{15}\text{N}$ [‰]	10,30	9,62	11,06	10,01	9,74	10,08	10,68	11,62	10,38	9,99	9,48	9,44	10,20	0,66
	Anteil N [%]	13,19	15,03	14,63	14,72	16,82	15,08	18,82	22,13	15,38	14,75	17,84	21,41	16,65	2,84
Fett	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]		-25,50	-25,45		-26,15	-26,95	-26,68	-25,70	-25,41	-26,13	-27,87	-26,87	-26,27	0,81
	Anteil C [%]		94,31	85,76		85,79	74,47	92,20	79,42	74,81		84,00	83,16	83,77	6,86

Tabelle 21: Ergebnisse der Aminosäureanalyse der rechtsmedizinischen Proben. Angegeben sind die 18 analysierbaren, proteinogenen Aminosäuren. Trp, hyp und hyl kommen im analysierten Haarkeratin nicht vor, trp lediglich im Muskelgewebe, hyp und hyl wurden nur im Knochenkollagen analysiert. Der Anteil bzw. die Konzentration des Cysteins entspricht dem bzw. der zweifachen des analysierten Cystins. Leere Zellen konnten beispielsweise aufgrund fehlender oder zu geringer (<0,1 mg) Einwaage nicht ausgewertet werden und wurden daher für die Mittelwertberechnung nicht herangezogen. Die Messgenauigkeit der Feinwaage ist 0,01 mg. Die Messgenauigkeit der HPLC ist 0,1 nmol.

Probe	Gewebe	Abschnitt	Einheit	asp	thr	ser	glu	pro	gly	ala	val	met	ile	leu	tyr	phe	his	lys	arg	cys	trp	hyp	hyl	
rP 1	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,00	6,24	14,00	12,46	7,97	7,73	5,20	4,10	0,65	3,85	6,07	1,51	2,11	0,73	2,29	4,89	16,20				
			nmol/mg	189,8	295,6	664,0	590,7	377,9	366,5	246,7	194,6	30,7	182,6	287,7	71,6	100,2	34,5	108,4	231,9	768,0				
		2-4 Wochen vor Tod	nmol%	4,04	6,84	13,34	11,16	9,37	7,08	5,87	4,44	0,52	2,20	6,60	1,54	2,16	0,83	2,72	6,06	15,22				
			nmol/mg	252,4	427,6	834,3	698,3	586,2	442,6	367,5	277,8	32,7	137,9	413,1	96,5	135,2	51,9	170,4	379,0	952,0				
		4-6 Wochen vor Tod	nmol%	4,11	6,87	13,19	12,16	8,27	6,61	4,85	4,52	0,46	2,73	6,13	1,54	1,94	0,84	2,64	5,91	17,24				
			nmol/mg	222,9	372,4	714,8	659,0	448,5	358,4	262,7	244,8	25,1	147,9	332,5	83,5	104,9	45,3	143,3	320,5	934,6				
		6-8 Wochen vor Tod	nmol%	4,07	6,59	14,26	12,89	7,23	6,96	5,10	4,44	0,52	3,19	6,01	1,69	1,95	0,81	2,57	5,09	16,65				
			nmol/mg	255,7	413,9	895,9	810,0	454,0	437,5	320,2	278,8	32,7	200,3	377,4	105,9	122,5	51,2	161,4	319,8	1045,8				
				nmol%	4,11	6,76	12,96	11,84	8,89	6,73	5,11	4,80	0,48	2,82	6,28	1,69	1,80	0,86	2,66	5,93	16,26			

		8-10 Wochen vor Tod	nmol/mg	314,3	517,3	991,2	905,9	680,2	514,6	390,5	367,5	36,9	216,0	480,2	129,2	137,5	66,0	203,5	453,7	1243,9				
		10-12 Wochen vor Tod	nmol%	4,11	6,69	13,06	12,36	8,59	6,99	4,97	4,38	0,60	3,09	6,12	1,94	2,19	0,84	2,50	5,16	16,42				
	Muskel		nmol/mg	288,6	470,0	917,7	868,2	603,4	490,9	348,9	307,8	42,1	217,0	430,1	136,4	153,9	59,0	175,7	362,7	1153,8				
			nmol%	7,33	7,33	5,21	5,51	8,79	7,43	15,92	11,89		1,95	2,57	8,01	2,34	3,53	1,80	7,58	8,97	0,79	0,37		
	Kollagen		nmol/mg	336,5	336,5	239,1	253,1	403,4	341,3	731,1	546,1		89,5	117,9	367,7	107,5	162,2	82,8	348,0	412,0	36,4	17,0		
			nmol%	2,58	2,58	0,89	2,75	5,64	12,28	38,12	14,74	1,80	0,24	0,26	2,49	1,24	1,19	0,29	2,53	3,97			0,89	
				nmol/mg	101,2	101,2	34,9	107,7	220,9	480,9	1492,6	577,4	70,3	9,5	10,2	97,6	48,5	46,6	11,2	99,2	155,5			34,9
				nmol%	2,58	2,58	0,89	2,75	5,64	12,28	38,12	14,74	1,80	0,24	0,26	2,49	1,24	1,19	0,29	2,53	3,97			0,89
	rP 2	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,08	5,86	15,08	13,53	8,86	9,01	5,89	3,53	0,67	1,55	6,21	1,60	2,38	0,91	2,42	5,66	12,76			
				nmol/mg	209,0	299,7	771,6	692,3	453,4	461,3	301,2	180,6	34,5	79,3	317,8	81,7	122,0	46,5	123,8	289,8	653,0			
2-4 Wochen vor Tod			nmol%	4,27	6,87	13,30	12,49	9,27	6,59	5,01	4,45	0,48	2,09	6,16	1,28	1,93	0,86	2,62	6,13	16,20				
			nmol/mg	300,8	484,6	937,7	881,2	653,6	464,5	353,3	313,9	33,6	147,4	434,4	90,4	136,4	60,7	185,1	432,4	1142,9				
4-6 Wochen vor Tod			nmol%	4,34	6,92	12,89	12,28	8,80	6,58	5,12	4,79	0,40	2,59	6,13	1,50	1,88	0,85	2,63	5,94	16,36				
			nmol/mg	400,2	638,8	1189,0	1133,4	812,2	607,4	472,0	442,2	36,9	239,3	565,9	138,0	173,0	78,7	242,2	548,1	1509,3				
6-8 Wochen vor Tod			nmol%	4,06	7,12	12,19	10,75	9,05	6,70	5,65	5,32	0,46	2,89	6,37	1,53	2,06	0,87	2,79	6,34	15,85				
			nmol/mg	284,5	498,9	854,1	753,5	634,2	469,2	395,8	372,7	32,5	202,8	446,6	106,9	144,5	60,6	195,4	444,6	1110,4				
8-10 Wochen vor Tod			nmol%	4,47	7,02	13,96	12,84	8,04	6,66	4,94	4,44	0,46	1,62	6,13	1,15	2,00	0,82	2,65	6,05	16,76				
			nmol/mg	115,7	181,7	361,5	332,4	208,1	172,3	127,8	115,0	12,0	41,8	158,7	29,9	51,8	21,2	68,7	156,6	433,9				
10-12 Wochen vor Tod			nmol%	4,15	6,80	12,86	12,99	8,52	6,67	5,00	4,66	0,45	2,79	6,06	1,62	1,91	0,82	2,43	5,97	16,30				
			nmol/mg	393,8	645,1	1220,1	1232,9	808,4	633,4	474,1	442,6	42,5	264,4	575,0	153,7	181,7	78,3	230,5	566,9	1546,7				
Muskel				nmol%	7,18	7,18	6,43	5,33	7,06	5,34	9,14	11,04	4,55	2,70	3,81	9,35	2,91	4,03	1,95	8,65	9,28	0,97	0,28	
				nmol/mg	384,2	384,2	344,0	285,0	378,1	285,6	489,2	591,0	243,5	144,4	204,0	500,6	156,0	215,6	104,2	463,2	496,8	52,0	15,2	
Kollagen				nmol%	2,67	2,67	1,42	3,31	7,00	13,23	32,01	12,73	1,92	0,09	0,84	2,57	0	1,31	0,26	2,83	4,90			1,42
				nmol/mg	185,0	185,0	98,1	229,0	484,7	916,5	2217,2	882,2	133,3	6,0	57,9	178,1	0	90,8	17,8	196,2	339,6			98,1
rP 3	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,52	6,51	14,79	12,59	8,10	8,02	5,97	4,09	0,17	3,90	5,74	0,94	1,93	0,76	2,23	5,00	14,73				
			nmol/mg	226,0	325,1	739,2	629,2	404,7	400,7	298,4	204,5	8,4	194,8	286,8	47,2	96,6	38,0	111,5	249,9	736,2				

		2-4 Wochen vor Tod	nmol%	4,06	6,31	14,08	12,93	8,26	7,30	4,95	4,48	0,42	3,00	5,81	0,92	1,97	0,82	2,32	5,65	16,71			
			nmol/mg	212,2	330,1	736,7	676,2	432,2	382,0	259,0	234,6	22,2	156,7	303,9	48,1	103,0	42,7	121,5	295,6	873,9			
		4-6 Wochen vor Tod	nmol%	4,31	6,30	15,45	12,92	7,03	7,82	6,05	4,19	0,52	3,68	5,72	0,96	1,95	0,74	2,23	5,21	14,94			
			nmol/mg																				
		6-8 Wochen vor Tod	nmol%	4,15	6,29	15,05	12,58	8,58	7,98	5,78	4,09	0,51	3,76	5,54	0,87	2,09	0,77	2,20	4,96	14,79			
			nmol/mg	268,9	407,1	974,3	814,9	555,7	517,0	374,4	265,1	32,9	243,7	358,9	56,5	135,1	49,7	142,5	321,3	958,0			
		8-10 Wochen vor Tod	nmol%	4,12	6,01	16,33	12,32	8,00	9,05	6,18	3,81	0,68	4,68	5,32	1,20	1,99	0,69	2,04	4,62	12,97			
			nmol/mg	172,2	251,5	683,6	515,6	334,8	378,8	258,8	159,3	28,5	195,7	222,4	50,1	83,4	28,7	85,3	193,3	542,6			
		10-12 Wochen vor Tod	nmol%	3,98	6,29	14,93	12,07	8,46	7,41	5,17	4,65	0,68	3,08	5,63	0,81	1,95	0,73	2,46	5,20	16,49			
			nmol/mg	455,1	719,0	1706,7	1380,0	967,3	847,4	591,0	531,3	78,1	351,9	643,7	93,0	222,9	84,0	281,6	594,9	1886,0			
		Muskel	nmol%	6,72	6,72	5,19	5,28	10,10	7,27	16,23	10,91	3,84	1,64	2,70	7,35	2,20	3,21	1,48	6,68	8,11	0,84	0,26	
			nmol/mg	411,6	411,6	317,5	323,0	618,3	444,7	993,5	667,8	235,0	100,6	165,0	449,6	134,6	196,4	90,8	408,7	496,2	51,5	15,7	
	Kollagen	nmol%	2,42	2,42	0,89	3,10	6,95	12,96	34,89	14,46	1,71	0,15	0,30	2,23	0,83	1,06	0,27	2,82	4,33			0,89	
		nmol/mg	125,4	125,4	46,3	161,2	360,7	672,5	1811,0	750,7	88,9	7,8	15,6	115,6	42,9	55,1	14,3	146,4	224,7			46,3	
rP 4	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,33	4,22	6,63	15,25	9,94	8,44	14,37	5,16	0,49	3,01	7,44	1,89	1,92	0,92	3,05	6,74	6,22			
			nmol/mg	420,4	409,8	643,9	1481,6	965,7	820,1	1396,1	501,0	47,7	292,6	723,4	183,8	186,2	89,7	295,9	655,2	604,8			
		2-4 Wochen vor Tod	nmol%	4,58	7,15	12,93	12,83	8,75	7,54	5,28	4,48	0,45	3,04	6,11	1,86	2,01	0,86	2,58	6,01	13,54			
			nmol/mg	405,3	632,8	1144,7	1136,0	774,3	667,6	467,6	397,0	40,0	269,6	541,0	164,2	178,0	76,0	228,5	532,5	1198,7			
		4-6 Wochen vor Tod	nmol%	4,01	7,35	11,49	11,29	9,46	6,86	4,91	5,32	0,39	2,82	6,24	2,01	1,78	0,89	2,78	6,40	16,01			
			nmol/mg	321,1	588,8	921,3	905,0	758,3	549,7	393,7	426,7	31,1	226,2	499,9	160,8	142,4	71,2	223,1	512,7	1283,3			
		6-8 Wochen vor Tod	nmol%	4,14	7,33	11,76	11,83	8,45	7,05	5,00	5,24	0,43	2,83	6,28	1,99	1,84	0,88	2,75	6,19	16,00			
			nmol/mg	339,5	601,1	964,6	970,3	693,3	578,7	409,8	430,0	35,4	231,9	515,5	163,3	150,9	72,4	225,9	507,8	1312,8			
		8-10 Wochen vor Tod	nmol%	4,12	7,41	11,63	11,98	8,03	6,90	4,89	5,44	0,29	2,99	6,24	1,96	1,81	0,86	2,67	6,31	16,48			
			nmol/mg	276,1	496,4	778,9	802,2	537,6	462,4	327,3	364,3	19,1	200,4	417,7	131,1	121,1	57,9	178,9	422,4	1103,5			
		10-12 Wochen vor Tod	nmol%	4,19	7,44	11,82	12,19	8,20	6,71	4,61	5,35	0,30	2,75	6,22	1,98	1,80	0,87	2,71	6,21	16,64			
			nmol/mg	253,8	451,3	716,8	739,4	497,3	406,8	279,6	324,4	18,4	166,9	377,1	120,1	109,3	52,6	164,5	376,5	1009,1			

	Muskel	nmol%	5,70	5,70	5,55	4,32	2,40	6,64	16,53	12,89	4,80	2,15	3,75	8,69	2,59	3,63	1,82	8,26	9,54	0,49	0,23	
		nmol/mg	312,5	312,5	304,4	236,7	131,8	364,2	906,1	706,3	263,4	118,0	205,7	476,3	142,1	198,8	100,0	452,6	523,1	27,1	12,8	
	Kollagen	nmol%	2,37	2,37	0,78	3,14	6,52	11,87	36,01	14,76	1,56	0,10	0,23	2,27	0,96	1,18	0,24	2,81	4,48			0,78
		nmol/mg	116,9	116,9	38,4	154,9	321,1	584,7	1773,5	726,8	76,9	4,9	11,4	111,9	47,3	58,0	12,0	138,5	220,8			38,4
rP 5	Muskel	nmol%	5,76	5,76	6,03	4,24	2,61	6,64	12,17	12,54	5,39	2,54	4,38	9,65	2,97	3,59	1,98	8,94	9,74	0,62	0,21	
		nmol/mg	294,8	294,8	308,2	217,1	133,8	339,5	622,5	641,7	275,9	130,1	224,3	493,5	151,7	183,9	101,1	457,4	498,4	31,6	10,5	
	Kollagen	nmol%	1,97	1,97	0,78	2,59	3,91	14,90	34,85	16,09	1,51	0,04	0,30	2,30		1,25	0,26	3,16	5,12			0,78
		nmol/mg	99,8	99,8	39,7	131,2	197,7	753,9	1763,1	813,9	76,2	1,8	15,2	116,2		63,1	13,1	159,7	259,2			39,7
rP 6	Muskel	nmol%	5,02	5,02	5,55	3,70	1,76	8,57	14,49	13,66	4,92	2,18	3,85	9,32	2,73	3,84	1,73	8,49	9,67	0,26	0,24	
		nmol/mg	243,5	243,5	269,1	179,3	85,5	415,5	702,2	662,0	238,7	105,7	186,6	452,0	132,4	186,1	84,1	411,5	468,7	12,7	11,8	
	Kollagen	nmol%	1,59	1,59	0,50	1,84	6,18	17,99	36,25	15,33	2,58		1,01	3,19		0,07	0,12	3,38	5,83			0,50
		nmol/mg	67,4	67,4	21,4	78,0	262,5	764,0	1539,8	651,0	109,4		42,9	135,5		3,1	4,9	143,4	247,7			21,4
rP 7	Muskel	nmol%	7,41	7,41	5,69	5,57	12,89	5,82	10,98	9,84	3,88	2,16	3,17	7,87	2,49	3,38	1,58	7,54	8,20	1,20	0,32	
		nmol/mg	443,4	443,4	340,6	333,3	771,3	348,3	656,6	588,7	232,3	129,0	189,7	470,5	149,0	202,1	94,4	451,1	490,7	71,6	19,2	
	Kollagen	nmol%	2,34	2,34	1,03	3,05	4,72	14,34	33,88	15,85	1,60	0,16	0,33	2,58	0,08	1,18	0,29	3,01	5,12			1,03
		nmol/mg	119,7	119,7	52,9	155,8	241,6	733,7	1733,6	811,1	81,9	8,1	16,7	132,1	4,3	60,2	14,9	153,9	261,8			52,9
rP 8	Muskel	nmol%	6,62	6,62	5,30	5,09	10,43	11,08	13,52	9,49	3,85	1,63	3,02	7,16	2,31	3,13	1,46	6,76	8,02	0,92	0,22	
		nmol/mg	440,9	440,9	352,8	338,6	694,1	737,4	899,6	631,4	256,2	108,2	201,1	476,7	153,5	208,0	97,2	449,6	534,0	61,4	14,5	
	Kollagen	nmol%	2,72	2,72	0,81	3,11	6,57	11,77	35,18	14,13	1,93	0,44	0,28	2,54	2,29	1,77	0,28	2,55	4,00			0,81
		nmol/mg	135,5	135,5	40,4	154,8	327,5	586,3	1752,7	703,7	96,0	22,1	13,9	126,4	114,1	88,3	14,2	127,2	199,5			40,4
rP 9	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,51	6,68	15,53	14,34	6,30	7,90	5,82	4,46	0,61	1,85	6,44	0,15	1,98	1,01	2,19	5,32	14,92		
			nmol/mg	410,2	607,4	1412,2	1303,6	573,3	718,5	528,8	405,5	55,9	167,8	585,2	13,5	179,9	92,1	199,2	483,9	1356,5		
	2-4 Wochen vor Tod	nmol%	4,26	6,02	14,81	13,19	8,79	8,05	5,92	4,03	0,79	4,12	6,11	0,51	2,00	0,94	1,97	5,52	12,95			
		nmol/mg																				

		4-6 Wochen vor Tod	nmol%	4,26	6,09	14,98	13,69	8,83	7,88	5,65	3,87	0,62	3,71	5,97	0,47	2,03	0,95	2,21	5,41	13,36					
			nmol/mg	265,7	380,2	934,7	854,5	551,1	491,7	352,9	241,6	38,8	231,7	372,3	29,3	126,7	59,5	138,1	337,9	834,0					
		6-8 Wochen vor Tod	nmol%	4,29	6,18	14,91	13,45	8,88	7,94	5,87	3,87	0,27	3,91	5,90	0,47	1,99	1,06	2,06	5,07	13,91					
			nmol/mg	228,1	328,7	793,2	715,6	472,6	422,8	312,2	206,2	14,3	208,2	314,0	24,8	105,7	56,3	109,5	269,9	740,0					
		8-10 Wochen vor Tod	nmol%	4,46	6,82	17,03	14,56	4,42	8,82	6,03	4,16	0	4,32	6,48	0,29	2,14	0,80	1,72	5,14	12,81					
			nmol/mg																						
		10-12 Wochen vor Tod	nmol%																						
			nmol/mg																						
		rP 10	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,64	6,44	15,57	13,33	9,16	8,14	5,75	3,77	0,63	1,46	6,05	1,31	1,95	0,75	2,20	5,71	13,15			
					nmol/mg	232,4	322,4	779,4	667,5	458,6	407,6	287,9	188,9	31,5	72,9	303,0	65,6	97,7	37,4	110,1	286,1	658,5			
2-4 Wochen vor Tod	nmol%			4,15	6,53	14,04	13,20	8,40	6,87	5,19	4,64	0,40	2,18	6,06	0,91	1,86	0,80	2,23	5,97	16,57					
	nmol/mg			345,7	543,6	1169,2	1099,8	699,6	572,6	432,0	386,6	33,7	181,4	504,8	75,6	154,5	67,0	186,0	497,1	1380,0					
4-6 Wochen vor Tod	nmol%			4,10	6,73	13,44	13,03	8,45	6,67	5,09	4,78	0,42	2,79	6,00	0,89	1,80	0,82	2,34	5,96	16,69					
	nmol/mg			390,9	642,0	1282,8	1243,2	806,1	636,8	486,1	456,0	40,2	266,6	572,4	84,9	172,2	77,9	223,0	569,1	1592,6					
6-8 Wochen vor Tod	nmol%			4,15	7,00	12,97	12,84	8,37	6,32	4,85	5,29	0,33	2,75	6,21	0,86	1,89	0,83	2,45	5,93	16,93					
	nmol/mg			298,2	502,8	931,6	922,3	601,1	453,8	348,4	380,1	23,7	197,6	446,3	61,8	135,8	59,6	176,3	425,9	1216,1					
8-10 Wochen vor Tod	nmol%			4,81	6,18	16,53	14,14	9,20	9,03	6,08	3,28	0,43	1,27	6,22	1,61	2,17	0,74	2,08	5,60	10,65					
	nmol/mg			202,3	260,1	695,5	595,3	387,1	380,1	256,0	137,9	18,1	53,5	261,8	67,6	91,1	31,1	87,4	235,6	448,0					
10-12 Wochen vor Tod	nmol%			4,04	6,81	14,23	13,14	8,55	7,06	5,26	4,63	0,21	2,11	6,06	1,02	1,91	0,78	2,27	5,85	16,09					
	nmol/mg			227,3	382,9	800,1	738,7	480,6	396,9	295,8	260,1	12,0	118,4	340,9	57,1	107,3	43,9	127,7	328,7	904,6					
rP 11	Haar			0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,46	6,61	14,70	13,09	7,54	7,18	5,64	4,74	0,21	3,45	6,33	0,46	1,94	0,85	2,44	4,72	15,64			
					nmol/mg	298,7	442,2	983,7	876,2	504,5	480,7	377,7	317,3	14,3	230,8	423,7	30,5	130,0	56,8	163,3	315,7	1047,0			
		2-4 Wochen vor Tod	nmol%	4,05	6,82	13,87	13,11	7,90	6,90	5,08	4,82	0,17	2,86	5,96	0,95	1,89	0,78	2,28	5,67	16,89					
			nmol/mg	219,8	369,9	752,2	711,2	428,6	374,4	275,3	261,3	9,2	155,2	323,0	51,3	102,7	42,5	123,8	307,6	916,3					
		4-6 Wochen vor Tod	nmol%	4,12	6,60	14,41	13,01	9,27	6,80	5,46	4,51	0,51	3,08	5,75	0,64	1,87	0,77	2,31	4,49	16,41					
			nmol/mg	574,3	920,4	2010,6	1814,9	1292,7	948,0	761,7	628,9	71,5	429,9	802,7	88,9	260,3	107,6	321,9	626,1	2288,6					

rP 12	Haar	6-8 Wochen vor Tod	nmol%	4,27	6,58	14,66	12,96	8,91	7,06	5,33	4,47	0,44	3,30	5,90	0,75	1,76	0,80	2,31	4,41	16,09				
			nmol/mg	323,3	497,8	1110,1	981,3	674,8	534,4	403,8	338,1	33,0	249,6	446,3	56,6	133,6	60,5	174,7	333,8	1218,0				
		8-10 Wochen vor Tod	nmol%	3,93	6,49	14,69	12,72	10,01	6,82	5,33	4,52	0,45	3,52	5,70	0,68	1,77	0,80	2,33	4,22	16,02				
			nmol/mg	465,0	769,4	1740,4	1506,9	1186,3	807,4	631,4	535,8	53,4	417,2	674,9	80,3	209,1	95,0	276,0	500,3	1897,6				
		10-12 Wochen vor Tod	nmol%	4,58	6,91	16,80	14,17	0	7,83	5,73	4,94	0,39	3,44	6,49	1,19	2,11	0,80	2,47	3,84	18,31				
			nmol/mg	1053,0	1588,0	3859,0	3255,0	0	1798,0	1317,0	1134,0	90,0	791,0	1490,0	273,0	484,0	183,0	568,0	882,0	4206,0				
	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,29	6,69	17,38	14,42	8,20	10,89	0	3,66	0,59	1,49	5,91	1,63	2,30	0,83	2,28	5,90	13,54				
			nmol/mg	188,9	295,0	765,9	635,4	361,4	479,8	0	161,2	25,9	65,8	260,7	71,7	101,3	36,4	100,6	260,0	596,9				
		2-4 Wochen vor Tod	nmol%	4,08	6,29	15,84	13,47	8,30	8,64	6,25	3,74	0,55	1,50	5,72	1,33	2,30	0,70	2,20	5,86	13,22				
			nmol/mg	232,5	358,4	902,1	767,3	472,6	492,3	356,1	213,1	31,1	85,5	325,8	76,0	130,8	40,1	125,1	333,8	752,7				
		4-6 Wochen vor Tod	nmol%	3,81	6,25	15,95	13,43	8,57	8,61	6,07	3,78	0,58	1,61	5,87	1,25	2,27	0,72	2,07	5,88	13,28				
			nmol/mg	160,0	262,5	669,8	563,9	360,0	361,6	254,9	158,6	24,5	67,5	246,5	52,6	95,4	30,1	86,9	246,8	557,6				
		6-8 Wochen vor Tod	nmol%	3,98	6,31	16,58	13,32	7,96	9,14	6,32	3,71	0,61	1,38	5,80	1,36	2,32	0,76	2,12	5,62	12,70				
			nmol/mg	183,9	291,2	765,1	614,8	367,4	421,9	291,6	171,1	28,3	63,7	267,8	62,8	107,0	35,1	97,7	259,6	586,2				
		8-10 Wochen vor Tod	nmol%	4,05	6,48	15,39	13,46	8,83	8,01	5,96	4,34	0,30	1,74	6,18	1,18	2,13	0,80	2,29	5,80	13,08				
			nmol/mg	186,5	298,1	707,9	619,4	406,0	368,5	274,1	199,7	13,7	80,1	284,2	54,4	97,8	36,7	105,4	266,6	601,9				
		10-12 Wochen vor Tod	nmol%	4,42	6,46	14,94	12,88	8,40	7,92	6,14	4,07	0,46	3,58	5,88	0,89	2,04	0,80	2,37	5,13	13,61				
			nmol/mg	262,2	383,3	886,6	763,9	498,2	469,8	364,4	241,2	27,4	212,4	349,1	53,0	120,9	47,5	140,9	304,3	807,2				
	Muskel	nmol%	6,22	6,22	5,44	4,78	6,37	7,37	15,23	11,70	4,32	1,98	3,19	8,27	2,48	3,49	1,66	7,49	8,97	0,77	0,27			
		nmol/mg	333,5	333,5	291,3	256,0	341,3	394,8	815,8	627,0	231,6	106,4	170,8	443,1	132,8	186,9	88,9	401,1	480,7	41,3	14,7			
	Kollagen	nmol%	2,28	2,28	1,08	2,59	3,63	13,69	36,43	15,82	1,53	0,19	0,68	2,71	0,55	1,27	0,32	2,74	4,69			1,08		
		nmol/mg	100,2	100,2	47,5	114,0	159,6	602,7	1603,4	696,4	67,4	8,2	29,9	119,4	24,0	56,0	14,2	120,7	206,3			47,5		
	rP 13	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,21	5,90	14,63	14,36	8,30	7,96	5,82	3,84	0,69	1,64	6,34	1,35	2,27	0,84	2,51	5,83	13,51			
				nmol/mg																				
2-4 Wochen vor Tod			nmol%	4,14	6,78	13,87	13,18	8,35	6,76	5,11	4,52	0,35	2,86	5,98	1,48	1,98	0,82	2,34	5,95	15,55				
			nmol/mg	438,8	717,9	1469,8	1396,8	884,9	716,3	541,0	478,4	36,8	302,6	633,3	156,3	209,3	86,8	247,4	630,7	1647,6				

		4-6 Wochen vor Tod	nmol%	3,89	6,11	15,74	13,23	8,01	8,16	5,85	3,86	0,57	1,55	5,93	1,60	2,24	0,75	2,17	5,86	14,48				
			nmol/mg	213,8	335,7	864,1	726,6	439,7	448,0	321,2	212,0	31,5	85,0	325,7	87,6	122,8	41,1	119,1	321,5	794,7				
		6-8 Wochen vor Tod	nmol%	3,92	6,08	17,13	13,52	8,48	9,63	6,31	3,26	0,73	1,14	5,30	1,57	2,11	0,72	2,03	5,46	12,62				
			nmol/mg	142,3	220,9	622,1	491,2	308,1	349,8	229,2	118,3	26,5	41,5	192,7	57,0	76,7	26,0	73,6	198,2	458,3				
		8-10 Wochen vor Tod	nmol%	4,20	6,42	16,47	13,85	4,86	8,90	6,32	3,85	0,74	1,51	6,09	1,67	2,15	0,76	2,19	5,80	14,23				
			nmol/mg	236,5	361,7	928,5	781,0	274,2	501,6	356,1	217,0	41,9	85,0	343,2	94,0	121,2	42,7	123,7	326,8	802,4				
		10-12 Wochen vor Tod	nmol%	4,13	5,92	14,96	12,73	8,48	7,91	6,03	3,73	0,64	4,55	5,67	2,08	2,18	0,76	2,03	5,02	13,21				
			nmol/mg																					
		Muskel	nmol%	5,62	5,62	5,33	4,04	2,60	7,86	18,29	13,50	4,59	1,92	3,44	8,17	2,42	3,28	1,61	7,42	9,32	0,37	0,22		
			nmol/mg	273,7	273,7	259,7	197,0	126,6	383,2	891,3	658,0	223,7	93,4	167,8	398,2	118,0	159,8	78,3	361,5	454,1	17,8	10,5		
		Kollagen	nmol%	2,44	2,44	0,79	2,49	4,22	12,33	40,02	15,35	1,71	0,31	0,27	2,00	0,51	1,32	0,29	2,52	4,38			0,79	
			nmol/mg	102,9	102,9	33,3	105,1	177,9	519,5	1686,4	646,7	72,1	13,1	11,5	84,4	21,5	55,6	12,4	106,4	184,4			33,3	
rP 14	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,35	7,05	13,04	12,21	8,88	6,19	5,28	4,86	0,49	2,87	6,42	0,93	2,19	0,88	2,49	6,24	15,64				
			nmol/mg	288,6	467,6	865,2	809,9	589,3	410,5	350,4	322,6	32,3	190,5	426,2	61,5	145,0	58,6	165,5	413,8	1037,8				
		2-4 Wochen vor Tod	nmol%	4,39	7,30	12,91	12,72	8,25	6,09	4,84	5,10	0,42	2,52	6,21	1,11	1,91	0,87	2,45	6,12	16,78				
			nmol/mg																					
		4-6 Wochen vor Tod	nmol%	4,47	6,91	13,56	12,92	8,99	6,46	5,12	4,40	0,47	2,13	6,12	1,15	2,12	0,84	2,40	6,26	15,67				
			nmol/mg	266,3	411,5	807,5	769,6	535,6	385,0	304,8	262,2	27,7	127,1	364,3	68,5	126,0	49,8	142,8	373,1	933,5				
		6-8 Wochen vor Tod	nmol%	4,43	7,15	12,78	12,43	8,27	6,34	5,23	5,28	0,46	2,75	6,58	0,94	2,05	0,81	2,86	6,58	15,06				
			nmol/mg	145,7	235,2	420,7	409,2	272,1	208,8	172,1	173,7	15,0	90,6	216,7	30,9	67,4	26,8	94,2	216,5	495,6				
		8-10 Wochen vor Tod	nmol%	5,87	7,42	3,99	15,17	10,63	8,65	7,06	4,49	0,79	1,90	7,41	1,55	2,60	0,86	2,74	5,92	12,94				
			nmol/mg	527,5	667,4	358,8	1363,9	955,3	777,8	635,0	404,0	70,9	171,2	666,4	139,0	233,4	77,1	246,3	532,3	1163,4				
		10-12 Wochen vor Tod	nmol%	4,55	6,73	13,24	13,65	8,24	6,69	5,38	4,78	0,45	2,82	6,40	1,24	2,09	0,78	2,51	5,90	14,53				
			nmol/mg	364,9	540,3	1062,7	1095,8	661,3	537,3	431,7	383,6	36,4	226,5	513,8	99,9	167,9	62,8	201,4	473,5	1165,9				
rP 15	Muskel	nmol%	6,10	6,10	5,06	4,62	6,40	8,81	19,03	11,69	3,92	1,68	2,80	7,24	2,12	3,20	1,43	6,23	8,77	0,66	0,24			
		nmol/mg	392,8	392,8	326,2	297,5	412,3	567,4	1225,9	752,8	252,8	108,2	180,4	466,4	136,7	206,0	92,4	401,5	565,1	42,3	15,1			

	Kollagen	nmol%	1,35	1,35	0,75	1,34	2,33	16,55	35,51	16,57	1,73	0,05	0,33	2,43		0,66	0,22	3,04	5,54			0,75	
		nmol/mg	58,7	58,7	32,6	58,1	101,1	718,5	1541,9	719,6	74,9	2,0	14,3	105,7		28,8	9,6	132,0	240,5			32,6	
rP 16	Muskel	nmol%	7,05	7,05	6,10	5,38	6,84	6,27	13,65	11,76	4,65	1,80	3,98	8,98	2,92	3,45	1,84	8,57	5,75	0,74	0,28		
		nmol/mg	395,1	395,1	341,7	301,6	382,9	351,2	764,4	658,5	260,5	100,8	223,1	503,3	163,4	193,3	103,2	479,8	322,1	41,2	15,5		
	Kollagen	nmol%	1,99	1,99	1,03	2,55	1,47	13,61	38,98	16,73	1,33	0,08	0,26	2,03		1,35	0,28	2,95	4,58			1,03	
		nmol/mg	84,9	84,9	43,8	108,8	62,6	580,9	1664,1	714,4	56,9	3,3	11,0	86,8		57,5	12,2	126,1	195,6			43,8	
MW	Haar	0-2 Wochen vor Tod	nmol%	4,32	6,17	13,98	13,47	8,68	8,17	5,99	4,19	0,51	2,58	6,28	1,29	2,11	0,83	2,43	5,63	13,49			
			nmol/mg	266,2	371,8	827,0	844,1	515,5	500,1	562,9	263,3	33,8	148,5	393,2	74,5	128,1	53,2	150,3	354,5	794,7			
		2-4 Wochen vor Tod	nmol%	4,19	6,76	13,80	12,79	8,62	7,09	5,29	4,52	0,42	2,47	6,07	1,26	2,00	0,82	2,42	5,94	15,63			
			nmol/mg	300,9	483,1	993,3	920,8	616,5	514,0	339,1	320,3	29,9	179,5	434,9	94,8	143,8	58,5	173,5	426,1	1108,0			
		4-6 Wochen vor Tod	nmol%	4,13	6,67	14,01	12,70	8,45	7,18	5,39	4,46	0,48	2,55	5,99	1,28	1,98	0,80	2,40	5,77	15,67			
			nmol/mg	312,8	505,8	1043,8	963,3	667,2	531,9	456,9	341,5	36,4	202,4	453,6	88,2	147,1	62,4	182,3	428,4	1192,0			
		6-8 Wochen vor Tod	nmol%	4,13	6,71	14,15	12,57	8,30	7,47	5,51	4,57	0,50	2,67	6,00	1,28	2,01	0,81	2,45	5,62	15,19			
			nmol/mg	247,0	399,7	833,2	748,3	503,3	439,4	366,1	273,4	27,4	173,0	358,2	72,6	117,9	49,8	145,1	329,7	914,1			
		8-10 Wochen vor Tod	nmol%	4,41	6,69	13,55	13,15	8,31	7,86	5,76	4,33	0,51	2,45	6,17	1,41	2,04	0,80	2,41	5,58	14,38			
			nmol/mg	277,4	422,6	805,1	824,7	552,2	484,8	361,9	277,8	32,7	162,3	389,9	86,2	127,4	50,7	152,8	343,1	915,2			
		10-12 Wochen vor Tod	nmol%	4,24	6,67	14,09	12,91	8,43	7,24	5,36	4,57	0,47	3,13	6,06	1,42	2,02	0,80	2,42	5,36	15,73			
			nmol/mg	295,1	466,8	942,9	898,1	587,7	494,5	370,8	315,4	31,6	215,5	423,3	108,4	140,9	56,3	168,0	392,4	1066,7			

Tabelle 22: Isotopenwerte des Kohlenstoffs und Stickstoffs für die mono- und dizygoten Zwillingspaare sowie der Betrag der Differenz (Zwilling 2-Zwilling 1) der δ -Notationen ($\Delta\delta^{15}\text{N}$ bzw. $\Delta\delta^{13}\text{C}$) zwischen den einzelnen Zwillingen. Die größte Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ist für $\delta^{15}\text{N}$ 0,08 ‰ und für $\delta^{13}\text{C}$ 0,06 ‰.

Paar	monozygote Zwillingspaare						dizygoten Zwillingspaare					
	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]			$\delta^{15}\text{N}$ [‰]			$\delta^{13}\text{C}$ [‰]			$\delta^{15}\text{N}$ [‰]		
	Zwilling 1	Zwilling 2	$\Delta\delta^{13}\text{C}$	Zwilling 1	Zwilling 2	$\Delta\delta^{15}\text{N}$	Zwilling 1	Zwilling 2	$\Delta\delta^{13}\text{C}$	Zwilling 1	Zwilling 2	$\Delta\delta^{15}\text{N}$
1	-20,68	-20,79	0,11	10,21	9,93	0,28	-21,03	-21,01	0,02	9,32	9,92	0,60
2	-21,35	-21,11	0,23	10,04	9,28	0,76	-20,92	-20,88	0,04	9,95	9,73	0,21
3	-20,89	-20,84	0,05	10,21	10,13	0,09	-20,91	-20,58	0,33	10,48	10,64	0,17
4	-20,38	-20,32	0,06	10,35	10,23	0,12	-20,79	-20,87	0,07	10,48	10,44	0,04
5	-20,96	-20,88	0,08	9,09	9,12	0,03	-20,69	-20,99	0,31	10,21	10,37	0,16
6	-20,89	-20,97	0,08	10,48	10,24	0,25	-20,95	-20,96	0,01	9,77	9,31	0,47
7	-22,26	-21,08	1,18	9,71	9,69	0,02	-21,07	-21,19	0,13	9,86	9,35	0,51
8	-20,68	-20,59	0,09	10,66	10,51	0,15	-20,66	-21,25	0,59	9,74	9,82	0,08
9	-20,77	-20,93	0,15	10,43	10,50	0,08	-20,94	-20,81	0,13	9,77	9,77	0
10	-20,89	-20,81	0,09	9,09	10,07	0,98	-20,80	-20,75	0,05	9,34	9,15	0,19
11	-20,99	-20,77	0,22	10,28	10,30	0,02	-21,12	-20,84	0,28	9,36	9,35	0,02
12	-20,67	-20,72	0,05	9,93	10,28	0,35	-21,29	-21,11	0,18	10,02	9,97	0,05
13	-21,40	-21,37	0,03	10,11	9,99	0,12	-21,12	-20,94	0,18	9,54	9,81	0,27
14	-21,03	-21,10	0,08	10,25	10,07	0,18	-20,95	-20,63	0,33	9,60	9,16	0,44
15	-20,63	-20,47	0,16	10,27	10,50	0,23	-20,99	-20,88	0,11	10,10	9,55	0,55
16	-21,31	-21,17	0,14	9,99	10,23	0,24	-21,06	-21,07	0,01	9,54	9,39	0,15
17	-21,58	-21,19	0,39	10,15	10,09	0,06	-21,07	-21,09	0,03	9,98	10,56	0,59
18	-20,37	-20,74	0,37	9,74	9,67	0,06	-20,87	-21,19	0,31	10,69	9,58	1,11
19	-20,97	-21,07	0,10	9,80	9,86	0,06	-21,41	-21,52	0,11	9,82	9,74	0,09
20	-20,68	-20,75	0,07	9,79	10,11	0,32	-21,17	-21,18	0,01	9,76	9,55	0,21
MW			0,19			0,22			0,16			0,30
SD			0,25			0,25			0,15			0,28

Tabelle 23: Isotopenwerte des Kohlenstoffs und Stickstoffs für die keratinisierten Hartgewebe aus Hall in Tirol. Angegeben ist zudem die Länge des analysierten Abschnitts und dessen Entfernung zur Haarwurzel (falls bekannt) sowie der korrespondierende Zeitabschnitt, in welchem die Haare bzw. der Nagel durchschnittlich gewachsen sind (vgl. auch ‚Retrospektiver Verlauf‘ auf Seite 52; n. b.: Wert nicht bestimmbar). Die größte Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ist für $\delta^{15}\text{N}$ und $\delta^{13}\text{C}$ 0,06 ‰.

Grab	Haarabschnitt (in mm ab Wurzel)	korrespondierender Zeitabschnitt vor Tod (bei durchschnittlichem Wachstum für jeweiliges Gewebe)	$\delta^{15}\text{N}$ [‰]	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]
23 (Kopfhaare)	10 mm Abschnitte, Lokalisation des Haarabschnitts zur Wurzel nicht bekannt	Monat x	11,39	-20,66
		Monat x+1	10,94	-19,85
		Monat x+2	10,29	-20,17
		Monat x+3	10,58	-19,39
		Monat x+4	9,71	-20,85
53 (Kopfhaare)	10 mm Abschnitte, Lokalisation des Haarabschnitts zur Wurzel nicht bekannt	Monat x	9,52	-20,89
		Monat x+1	9,37	-20,44
		Monat x+2	9,33	-20,61
65 (Kopfhaare)	0-5	0-2 Wochen	10,14	-20,59
	5-10	2-4 Wochen	9,15	-20,67
	10-17,5	4-7 Wochen	8,88	-20,79
94 (Kopfhaare)	0-2,5	0-1 Wochen	10,43	-21,35
	2,5-5	1-2 Wochen	9,77	-21,24
	5-7,5	2-3 Wochen	n. b.	-21,69
	7,5-10	3-4 Wochen	9,72	-21,29
	10-12,5	4-5 Wochen	9,56	-21,27
	12,5-15	5-6 Wochen	9,60	-21,25
	15-30	6-12 Wochen	9,66	-21,08
	70-80	28-32 Wochen	10,26	-21,01
	80-90	32-36 Wochen	9,94	-20,17
	160-170	64-68 Wochen	10,27	-22,87
	170-180	68-72 Wochen	10,07	-21,42
	180-190	72-76 Wochen	10,14	-21,12
	102 (Nagel)	0-2 (fester Nagel)	ca. 20-23 Wochen	9,86
2-3 (Übergang fester/freier Nagel)		23-25 Wochen	10,11	-19,67
3-5 (freier Nagel)		25-29 Wochen	10,11	-19,43
5-7		29-33 Wochen	10,03	-19,44
7-9		33-37 Wochen	9,92	-19,42
148 (Kopfhaare)	0-5	0-2 Wochen	10,36	-20,36
	5-10	2-4 Wochen	9,73	-20,50
	10-15	4-6 Wochen	9,44	-20,69
	15-20	6-8 Wochen	9,48	-20,85
	20-25	8-10 Wochen	9,33	-20,66
	25-35	10-12 Wochen	9,46	-20,77
148 (Barthaare)	0-2	0-1 Woche	10,38	-20,58
	2-4	1-2 Wochen	10,25	-20,47
	4-6	2-3 Wochen	10,12	-20,56
157 (Kopfhaare)	0-1,3	0-5 Wochen	11,40	-20,48
180 (Schamhaare)	0-2,5	0-1 Woche	9,86	-20,73
	2,5-5	1-2 Wochen	9,87	-20,70
	5-7,5	2-3 Wochen	9,91	-20,74
	7,5-10	3-4 Wochen	9,93	-20,76
	10-12,5	4-5 Wochen	9,89	-20,78
	12,5-15	5-6 Wochen	9,93	-20,83
	15-17,5	6-7 Wochen	9,91	-20,76
	17,5-27,5	7-11 Wochen	9,97	-20,79

VII.1 Abkürzungsverzeichnis

Die Abkürzungen der einzelnen Aminosäuren sind in Tabelle 13 aufgeführt.

ASA	Aminosäureanalyse
AZ	Allgemeinzustand
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMI	Body-Mass-Index
CSIA	compound specific isotope analysis
DGEM	Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin
dz	dizygot
GC-C-IRMS	gas chromatography - combustion - isotope ratio mass spectrometry
HCl	Salzsäure
HP	Haarprobe
HPLC	high performance liquid chromatography
KG	Körpergewicht
LC/IRMS	liquid chromatography/isotope ratio mass spectrometry
m	männlich
Mm	Musculi
MSA	Methansulfonsäure
MW	Mittelwert
mz	monozygot
RBG	Retinol-Bindendes-Globulin
rHP	rechtsmedizinische Haarprobe
rP	rechtsmedizinische Probe
rpm	rounds per minute
SD	standard deviation/Standardabweichung
SDB	Sample Dilution Buffer
STD	Standard
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Trizephshautfalte
TU	Todesursache
V. a.	Verdacht auf
VPDB	Vienna PeeDee Belemnite
w	weiblich
WHO	World Health Organization
Z. n.	Zustand nach

VII.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Proteinumsatz und freie Aminosäuren im menschlichen Körper (Grafik aus Biesalski <i>et al.</i> (2017); mit freundlicher Genehmigung von Georg Thieme Verlag KG; © 2017 Georg Thieme Verlag KG).....	23
Abbildung 2: Relative Veränderung von Energieträgern bei Nahrungskarenz im Verlauf der Zeit (Grafik aus Suter (2008); mit freundlicher Genehmigung von Georg Thieme Verlag KG; © 2008 Georg Thieme Verlag KG).....	25
Abbildung 3: Übersicht des Hungerstoffwechsels in der Leber für verschiedene Energieträger (Grafik aus Biesalski <i>et al.</i> (2017); mit freundlicher Genehmigung von Georg Thieme Verlag KG; © 2017 Georg Thieme Verlag KG).....	25
Abbildung 4: Anatomie des Haares (Grafik aus Schiebler und Korf (2007); mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature; © 2007 Springer Nature).....	27
Abbildung 5: Zyklische Bildung eines neuen Haares (Grafik aus Fritsch (2009); mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature; © 2009 Springer Nature).....	29
Abbildung 6: Haarwachstums-Zyklus und Haarwurzelmorphologie (Grafik aus Wolff (2017); mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature; © 2017 Springer Nature).....	30
Abbildung 7: Exemplarische Darstellung der Bergung und Präparation keratinisierter Hartgewebe auf der Grabung anhand von Grab 94. Oben links: in situ Befund des Grabes, oben rechts: Haare in situ mit Blick auf das Hinterhaupt, unten links: Entfernung des Erdreichs und Präparation der Haare, unten rechts: zum Zopf geflochtene Haare, die von größerem Schmutz befreit sind.....	41
Abbildung 8: Übersicht über die verschiedenen Ansätze zur Beantwortung der Frage nach Veränderungen der Haare bei Unterernährung.....	43
Abbildung 9: Links: Werkzeug zur Präparation (von links: Nadelhalter mit Silikonknoppen, Skalpell, chirurgische Pinzette); rechts: exemplarischer Skalp mit Haaren.....	48
Abbildung 10: Mithilfe einer chirurgischen Pinzette, Skalpell und Nadelhalter wird von der parasternalen Gewebeprobe subkutanes Fettgewebe, <i>Mm. intercostales</i> und Knochen für die weitere Bearbeitung präpariert und separiert.....	49
Abbildung 11: Vorbereitung der Haarsträhne für die weiteren Analysen.....	50

Abbildung 12: Haarsträhne mit Anagen-Haarwurzeln, welche ca. 100 µm genau auf eine Kante justiert wurden.....	51
Abbildung 13: Soxhlet-Apparatur zum Entfetten der Proben.....	53
Abbildung 14: Fertig aufbereitete Proben in Rollrandgläsern (obere Reihe Fettgewebe, mittlere Reihe Muskelgewebe, untere Reihe Knochen-Kollagen).	55
Abbildung 15: Schematischer Aufbau des SYKAM Amino Acid Analyzer S433.....	61
Abbildung 16: Verteilung der Haarwachstumsphasen bei den rechtsmedizinischen Probanden. Insgesamt wurden 4030 Haare von 16 Probanden mikroskopisch untersucht (für Details vgl. Tabelle 14).....	63
Abbildung 17: Einfluss der Waschlösung und der Einwirkzeit auf den $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Haarstandards. Der Fehlerindikator von Standard (STD) ungewaschen ist die Standardabweichung vom Mittelwert $\pm 0,22\%$. Die übrigen Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($0,07\%$).	64
Abbildung 18: Einfluss der Waschlösung und der Einwirkzeit auf den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Haarstandards. Der Fehlerindikator von Standard (STD) ungewaschen ist die Standardabweichung vom Mittelwert ($\pm 0,19\%$). Die übrigen Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,1\%$).	64
Abbildung 19: Vergleich der Mittelwerte der δ -Notationen von je 20 Proben des Standards vor und nach dem Waschschrift mit einer Chloroform-Methanol-Lösung im Verhältnis 1:2 für 1,5 h.	65
Abbildung 20: Vergleich der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von den unsortierten Haarsträhnen und den Mittelwerten (MW) der Anagenhaarsträhnen von den rechtsmedizinischen Haarproben 1-10. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,07\%$).	66
Abbildung 21: Vergleich der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von den unsortierten Haarsträhnen und den Mittelwerten (MW) der Anagenhaarsträhnen von den rechtsmedizinischen Haarproben 1-10. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,09\%$).	67
Abbildung 22: Mittelwerte der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der rechtsmedizinischen Proben für beide Messreihen der Anagenhaarsträhnen. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messgenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,07\%$).	68

- Abbildung 23: Mittelwerte der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der rechtsmedizinischen Proben für beide Messreihen der Anagenhaarsträhnen. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,09\%$)..... 68
- Abbildung 24: Vergleich der Ausbeute in Nanomol Aminosäuren pro Milligramm Haar von sechs verschiedenen Hydrolyseverfahren (Abbildung aus Krippner (2015)). 70
- Abbildung 25: Vergleich des Aminosäureprofils von Haarkeratin bei verschiedenen Hydrolyseverfahren und dem Literaturwert aus Yu *et al.* (1993). Die Abbildung wurde aus den Daten von Krippner (2015) generiert. 71
- Abbildung 26: Vergleich der Chromatogramme der verschiedenen Aufschlussmethoden. Die Y-Achse entspricht der Intensität des Signals in Millivolt, die X-Achse entspricht der Zeit, nach welcher die jeweilige Aminosäure detektiert wird. Besonders zwischen Minute 20 und 40 werden die Aminosäuren nicht bei allen Aufschlussmethoden adäquat aufgetrennt. 71
- Abbildung 27: Vergleich der Chromatogramme von den beiden Aminosäure-Aufschlüssen mit 12 M HCl. Die Flächen unter den Peaks sind nahezu identisch. Zudem werden kaum zusätzliche Peaks detektiert, welche z. B. durch Abbauprodukte von Aminosäuren zustande kommen. Die Y-Achse entspricht der Intensität des Signals in Millivolt, die X-Achse entspricht der Zeit, nach welcher die jeweilige Aminosäure detektiert wird. 72
- Abbildung 28: Aminosäurezusammensetzung von Haarkeratin des internen Standards (Mittelwerte aus 38 Analysen, Angaben in nmol%, vgl. auch Tabelle 19, Daten aus Krippner (2015))..... 74
- Abbildung 29: Veränderung der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte im zeitlichen Verlauf ab zwölf Wochen vor dem Tod bei rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,07\%$). 75
- Abbildung 30: Veränderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im zeitlichen Verlauf ab zwölf Wochen vor dem Tod bei rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,09\%$). 75
- Abbildung 31: Grafische Darstellung der Varianzanalyse in Form von Box-Plots (Tukey) erstellt durch GraphPad Prism 8.1.0. Angezeigt werden die Mittelwerte der Differenzen zwischen den einzelnen Abschnitten für die $\delta^{13}\text{C}$ - und $\delta^{15}\text{N}$ -Werte und ihre Varianz. 76

- Abbildung 32: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der verschiedenen Gewebe der rechtsmedizinischen Proben (rP). Die Fehlerindikatoren entsprechen der größten Messungenauigkeit des Massenspektrometers für das jeweilige Gewebe (für Haar perimortal und Haar t-3M +/- 0,07 ‰; für Muskel und Knochen +/-0,04 ‰). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod..... 77
- Abbildung 33: Mittelwerte der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der verschiedenen Gewebe von rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung. Die Fehlerindikatoren entsprechen jeweils den Standardabweichungen vom Mittelwert (Haar perimortal +/-0,9 ‰, Haar t-3M +/- 0,6 ‰, Knochen +/-0,8 ‰, Muskel +/-0,7 ‰). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod..... 77
- Abbildung 34: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der verschiedenen Gewebe von rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung (rP). Die Fehlerindikatoren entsprechen der größten Messungenauigkeit des Massenspektrometers für das jeweilige Gewebe (Haar perimortal und Haar t-3M +/-0,09 ‰, Muskel +/-0,06 ‰, Knochen +/-0,06 ‰, Fett +/- 0,1 ‰). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod. 78
- Abbildung 35: Mittelwerte der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der verschiedenen Gewebe von rechtsmedizinischen Probanden mit Unterernährung. Die Fehlerindikatoren entsprechen jeweils der Standardabweichung vom Mittelwert (Haar perimortal +/-0,6 ‰, Haar t-3M +/-0,7 ‰, Knochen +/-0,5 ‰, Muskel +/-0,6 ‰, Fett +/-0,8 ‰). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod. 78
- Abbildung 36: Aminosäurezusammensetzung des Haarkeratins in nmol% im zeitlichen Verlauf bei Unterernährung ab drei Monate vor dem Tod (Mittelwert aus zehn Probanden). . 79
- Abbildung 37: Veränderungen im Aminosäureprofil vom definierten Ausgangswert (100 %) drei Monate prä mortal. Dargestellt ist die prozentuale Veränderung vom Ausgangswert aller im Haarkeratin vorhandenen Aminosäuren bei Unterernährung im zeitlichen Verlauf (Mittelwert aus zehn Probanden). 80
- Abbildung 38: Veränderung der Aminosäurekonzentration für jede einzelne Aminosäure in nmol/mg Haarkeratin im zeitlichen Verlauf als Mittelwert aus zehn Probanden mit Unterernährung..... 81
- Abbildung 39: Veränderung der Proteinkonzentration im Haar im retrospektiven Verlauf (Mittelwert aus zehn Probanden)..... 82

- Abbildung 40: Prozentualer Anteil der jeweiligen Aminosäuren am Muskelprotein von unterernährten Probanden (Mittelwert aus zwölf Proben). 83
- Abbildung 41: Prozentualer Anteil der jeweiligen Aminosäuren am Knochenskollagen von unterernährten Probanden (Mittelwert aus zwölf Proben). Die Fehlerindikatoren entsprechen der Standardabweichung vom jeweiligen Mittelwert. Zudem ist der Literaturwert aus Ambrose (1993) abgebildet (vgl. auch Tabelle 19). 84
- Abbildung 42: Aminosäurezusammensetzung von verschiedenen Gewebeproteinen von unterernährten Probanden. Die Fehlerindikatoren entsprechen den jeweiligen Standardabweichungen der Mittelwerte aus zwölf unterernährten Probanden (siehe auch Tabelle 19). Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod, Haar STD entspricht dem internen Haarstandard von normalernährten Personen. 85
- Abbildung 43: Boxplots (Tukey, Mittelwert “+“) der jeweiligen Differenzen (Δ) zwischen den δ -Notationen für Stickstoff und Kohlenstoff von mono- bzw. dizygoten Zwillingspaaren. 86
- Abbildung 44: Chronologischer Verlauf der $\delta^{15}\text{N}$ -Werte von Haarsträhnen unterernährter rechtsmedizinischer Probanden (rHP). Ein analysierter Haarabschnitt von 5 mm entspricht ca. zwei Wochen. Die Werte entsprechen dem Mittelwert aus zwei Messungen, außer bei rHP 11, 12 und 16 (hier nur eine Messung). Die größte Messunsicherheit des Massenspektrometers ist 0,07 %. 109
- Abbildung 45: Chronologischer Verlauf der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Haarsträhnen unterernährter rechtsmedizinischer Probanden (rHP). Ein analysierter Haarabschnitt von 5 mm entspricht ca. zwei Wochen. Die Werte entsprechen dem Mittelwert aus zwei Messungen, außer bei rHP 11, 12 und 16 (hier nur eine Messung). Die größte Messunsicherheit des Massenspektrometers ist 0,09 %. 111
- Abbildung 46: BMI-Verlauf von Proband 2. Anamnestisch ist bei einer Körperhöhe von 1,71 m bekannt, dass der Proband von 70 kg sechs Wochen vor dem Tod auf 46 kg zwei Wochen vor dem Tod bei absoluter Nahrungs- und Flüssigkeitskarenz abgemagert sei und bei anschließenden fünf Tagen Ernährung weitere 10 Tage gefastet habe, bis er mit einem Gewicht von 37 kg verstorben sei. 112
- Abbildung 47: Chronologischer Verlauf ausgewählter Aminosäuren und $\delta^{13}\text{C}$ - sowie $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der rechtsmedizinischen Haarprobe 2. 113

- Abbildung 48: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte des Haarkeratins der Gräber mit Haarwurzel-Erhaltung im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06\%$, bzw. $\pm 0,04\%$ für Grab 65 und Grab 148 Barthaare). 115
- Abbildung 49: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Haarkeratins der Gräber mit Haarwurzel-Erhaltung im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06\%$)..... 116
- Abbildung 50: $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Haarkeratins von Grab 23 im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Da keine Haarwurzeln überliefert waren, konnte der genaue Zeitpunkt vor dem Tod nicht bestimmt werden. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06\%$)..... 119
- Abbildung 51: $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Haarkeratins von Grab 53 im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Da keine Haarwurzeln überliefert waren, konnte der genaue Zeitpunkt vor dem Tod nicht bestimmt werden. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06\%$)..... 120
- Abbildung 52: $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Fingernagel-Keratins von Grab 102 im retrospektiven zeitlichen Verlauf. Aufgrund der Größe des freien Nagels wurde der gesamte Nagel interpoliert und die Zeit (in Wochen vor dem Tod) geschätzt, in welcher der freie Nagel vermutlich gebildet wurde. Die Fehlerindikatoren entsprechen der Messungengenauigkeit des Massenspektrometers ($\pm 0,06\%$)..... 120

VII.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Mittlere $\delta^{15}\text{N}$ - und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte [‰] mit Standardabweichung (SD) von Haaren bei unterschiedlicher Ernährung (Anzahl der Probanden in Klammern); Daten aus (Petzke <i>et al.</i> 2005b).....	12
Tabelle 2: $\delta^{15}\text{N}$ - bzw. $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der einzelnen Aminosäuren im Haarkeratin bei Personen mit omnivorer bzw. vegetarischer/veganer Ernährungsweise. Angegeben sind die Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD) und die Anzahl der Proben (n). Die Daten stammen von Petzke <i>et al.</i> (2005b), lediglich die Werte von Cystein stammen von Bichon <i>et al.</i> (2018).....	13
Tabelle 3: Altersabhängige Normwerte für den BMI nach Biesalski <i>et al.</i> (2017).	17
Tabelle 4: Übersicht der rechtsmedizinischen Proben; w: weiblich, m: männlich, TU: Todesursache, V. a.: Verdacht auf, Z. n. Zustand nach, AZ Allgemeinzustand.	39
Tabelle 5: Probenübersicht der bei der Ausgrabung in Hall in Tirol geborgenen keratinisierten Hartgewebe. Es handelt sich bei Grab 102 um einen Fingernagel, bei Grab 148 konnten sowohl Kopf- als auch Barthaare geborgen werden, bei Grab 180 handelt es sich um Schamhaare. Die restlichen Proben sind Kopfschamhaare. Die für den Ernährungszustand relevanten Individualdaten sind den historischen Pflegeberichten bzw. den Krankenakten entnommen (J: Jahre, M: Monate, T: Tage, m/w: männlich/weiblich).	42
Tabelle 6: Übersicht über die beteiligten rechtsmedizinischen Proben an den verschiedenen Versuchsansätzen.	44
Tabelle 7: Übersicht der Kriterien für die praktikabelste Aufschlussmethode für Haarkeratin. Eine positive Bewertung wird durch „+“, eine negative Bewertung durch „-“ und eine neutrale Bewertung durch „0“ ausgedrückt (Tabelle aus Krippner (2015)).....	73
Tabelle 8: Vergleich der Delta-Notationen für die errechneten und die experimentellen Mittelwerte für jeden Abschnitt der unsortierten Haarsträhne sowie der Abstand zwischen beiden Werten.....	97
Tabelle 9: Vergleich der Delta-Notationen für die errechneten und die experimentellen Mittelwerte für jeden Abschnitt der Anagenhaarsträhne sowie der Unterschied zwischen beiden Werten.....	98
Tabelle 10: Beschreibung der Nagel- und Haarproben sowie Verteilung der Wachstumsphasen bei den Haarproben mit Wurzel-Erhaltung von Verstorbenen aus Hall in Tirol.	114

- Tabelle 11: Übersicht der entnommenen Gewebeprouben der rechtsmedizinischen Proben (A1-3: Anagenhaarsträhne 1-3, U: unsortierte Haarsträhne, F: Fett, M: Muskel, K: Knochen).
..... 138
- Tabelle 12: Übersicht der Haarproben der Zwillingsstudie aus jeweils 20 mono- und dizygoten Zwillingspaaren (HP = Haarproben, mz = monozygot, dz = dizygot, X.1 bzw. X.2 entspricht dem jeweiligen Zwilling eines Paares, m = männlich, w = weiblich). Die alte Probennummer entspricht dem jeweiligen Zwillingspaar der Ursprungsstudie. Die Tabelle wurde modifiziert nach Benda (2015).
..... 139
- Tabelle 13: Die im SYKAM Kalibrierstandard (A9906) enthaltenen Aminosäuren und die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Abkürzungen. Die Aminosäure Cystein ist nicht im Standard enthalten. Der Wert wurde näherungsweise durch den doppelten Cystinwert bestimmt. Die jeweilige Konzentration der Aminosäuren im Kalibrierstandard beträgt 1 $\mu\text{mol/ml}$ (bei Urea 10 $\mu\text{mol/ml}$).
..... 140
- Tabelle 14: Verteilung der Wachstumsphasen der rechtsmedizinischen Probanden nach mikroskopischer Untersuchung der Haarwurzelanatomie.
..... 141
- Tabelle 15: Isotopenwerte in ‰ sowie prozentualer Anteil für Kohlenstoff und Stickstoff im Haarstandard nach verschiedenen langen Einwirkzeiten (30, 60, 90, 120, und 150 Minuten) bei zwei verschiedenen Waschlösungen (Chloroform:Methanol im Verhältnis 1:2 (v/v) bzw. 2:1 (v/v)). Die Messungenauigkeit des Massenspektrometers beträgt 0,07 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$, 0,05 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$, 0,2 % für %C und 0,08 % für %N.
..... 142
- Tabelle 16: Isotopenwerte in ‰ sowie prozentualer Anteil für Kohlenstoff und Stickstoff im Haarstandard für je 20 ungewaschene und gewaschene Proben (mit Chloroform:Methanol im Verhältnis 1:2 (v/v) für 90 Minuten). Die Messungenauigkeit des Massenspektrometers beträgt 0,07 ‰ für $\delta^{15}\text{N}$, 0,1 ‰ für $\delta^{13}\text{C}$, 0,09 % für %C und 0,14 % für %N.
..... 142
- Tabelle 17: $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der rechtsmedizinischen Haarproben in ‰. Der größte Messfehler des Massenspektrometers der verschiedenen Messreihen liegt bei 0,07 ‰.
..... 143
- Tabelle 18: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der rechtsmedizinischen Haarproben in ‰. Der größte Messfehler des Massenspektrometers der verschiedenen Messreihen liegt bei 0,09 ‰.
..... 144
- Tabelle 19: Aminosäurezusammensetzung von verschiedenen Gewebeproteinen. Angegeben ist der Anteil der Aminosäuren am Gesamtprotein in nmol% mit der Standardabweichung (SD) in der darauffolgenden Spalte (Mittelwert aus zehn

rechtsmedizinischen Probanden). Der Anteil an Cystein entspricht dem zweifachen des analysierten Cystins. Haar perimortal entspricht 0-2 Wochen vor dem Tod, Haar t-3M entspricht 10-12 Wochen vor dem Tod, Haar STD entspricht dem internen Laborstandard (aus 38 Analysen). Die Muskel- und Kollagen-Werte sind Mittelwerte aus zwölf rechtsmedizinischen Probanden. Zusätzlich sind Literaturwerte für Haare und Knochenkollagen zum Vergleich angegeben. 145

Tabelle 20: Isotopenwerte sowie prozentualer Anteil von Kohlenstoff und Stickstoff von Gewebeproben (Knochen, Muskel und Fett) der rechtsmedizinischen Proben von unterernährten Probanden. Da im Fettgewebe sehr wenig bzw. kein Stickstoff vorhanden ist, werden hier keine $\delta^{15}\text{N}$ -Werte angegeben. Bei rP 1 und 4 konnte kein Isotopenwert analysiert werden (wegen zu geringer Menge an subkutanem Fettgewebe bei Unterernährung). Die größte Messungenauigkeit des Massenspektrometers beträgt für $\delta^{13}\text{C}$ 0,1 ‰, für Anteil C 0,2 ‰, für $\delta^{15}\text{N}$ 0,07 ‰ und für Anteil N 0,14 ‰..... 146

Tabelle 21: Ergebnisse der Aminosäureanalyse der rechtsmedizinischen Proben. Angegeben sind die 18 analysierbaren, proteinogenen Aminosäuren. Trp, hyp und hyl kommen im analysierten Haarkeratin nicht vor, trp lediglich im Muskelgewebe, hyp und hyl wurden nur im Knochenkollagen analysiert. Der Anteil bzw. die Konzentration des Cysteins entspricht dem bzw. der zweifachen des analysierten Cystins. Leere Zellen konnten beispielsweise aufgrund fehlender oder zu geringer (<0,1 mg) Einwaage nicht ausgewertet werden und wurden daher für die Mittelwertberechnung nicht herangezogen. Die Messungenauigkeit der Feinwaage ist 0,01 mg. Die Messungenauigkeit der HPLC ist 0,1 nmol..... 146

Tabelle 22: Isotopenwerte des Kohlenstoffs und Stickstoffs für die mono- und dizygoten Zwillingspaare sowie der Betrag der Differenz (Zwilling 2-Zwilling 1) der δ -Notationen ($\Delta\delta^{15}\text{N}$ bzw. $\Delta\delta^{13}\text{C}$) zwischen den einzelnen Zwillingen. Die größte Messungenauigkeit des Massenspektrometers ist für $\delta^{15}\text{N}$ 0,08 ‰ und für $\delta^{13}\text{C}$ 0,06 ‰. 154

Tabelle 23: Isotopenwerte des Kohlenstoffs und Stickstoffs für die keratinisierten Hartgewebe aus Hall in Tirol. Angegeben ist zudem die Länge des analysierten Abschnitts und dessen Entfernung zur Haarwurzel (falls bekannt) sowie der korrespondierende Zeitabschnitt, in welchem die Haare bzw. der Nagel durchschnittlich gewachsen sind (vgl. auch ‚Retrospektiver Verlauf‘ auf Seite 52; n. b.: Wert nicht bestimmbar). Die größte Messungenauigkeit des Massenspektrometers ist für $\delta^{15}\text{N}$ und $\delta^{13}\text{C}$ 0,06 ‰. 155

VII.4 Ethikantrag



Ethikkommission · Pettenkoferstr. 8 · 80336 München

Titel:	Keratinisiertes Hartgewebe als Monitor von Fehlernährung - Ein Ansatz zur Klärung forensischer und historischer Fragestellung.
Antragsteller:	Sebastian Gruber
Projekt- Nr.	387-12

Sehr geehrter Herr Gruber,

besten Dank für Ihr Schreiben vom 27.05.2013 mit der Erfüllung der Auflagen und den noch ausstehenden bzw. überarbeiteten Unterlagen (Ansprechpartner der am Projekt beteiligten Institute /Kliniken, Einverständniserklärungen Instituts- /Klinikdirektoren, Probandeninformation und Einverständniserklärung).

Die Ethikkommission (EK) kann Ihrer Studie nun die ethisch-rechtliche Unbedenklichkeit zuerkennen.

Vorsorglich möchte ich darauf hinweisen, dass auch bei einer positiven Beurteilung des Vorhabens durch die EK die ärztliche und juristische Verantwortung für die Durchführung des Projektes uneingeschränkt bei Ihnen und Ihren Mitarbeitern verbleibt.

Änderungen des Studienprotokolls sind der EK mitzuteilen. Für Ihre Studie wünsche ich Ihnen viel Erfolg.

Mit freundlichen Grüßen

VIII DANKSAGUNG

Mein Dank gilt allen Personen, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben und mich während der Promotion unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Gisela Grupe, die mich bereits als Biologiestudent für die Anthropologie begeisterte und meine bisherige wissenschaftliche Laufbahn prägte und förderte. Weiterhin möchte ich mich für die exzellente Betreuung der Doktorarbeit bedanken.

Bei Prof. Dr. Matthias Graw und Dr. Christian Braun vom Institut für Rechtsmedizin der Medizinischen Fakultät der LMU möchte ich mich für die Bereitstellung der Gewebeproben und die rechtsmedizinische Expertise bedanken.

Ein weiterer Dank gebührt Frau Dr. Angelika Burkhardt, die mir die Haarproben für die Zwillingsstudie zur weiteren Untersuchung überlassen hat.

Bei den Verantwortlichen der Ausgrabung in Hall in Tirol und im Besonderen bei Dr. Nadine Carlichi-Witjes, die für die anthropologischen Befunde zuständig war, möchte ich mich herzlich für die Gelegenheit bedanken, an der Grabung teilnehmen zu dürfen, um Haarproben zu asservieren.

Für die massenspektrometrische Analyse der stabilen Isotope möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Michael Joachimski und seinen Mitarbeitern bedanken.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Ferdinand Neuberger, der mich in das Thema meiner Doktorarbeit eingearbeitet hat, für seine Unterstützung und für die vielen interessanten und anregenden Diskussionen zum Thema.

Bei Lisa Benda und Katharina Krippner, die im Rahmen meiner Doktorarbeit ihre Abschlussarbeiten anfertigten, möchte ich mich für ihre Arbeit und Unterstützung bedanken.

Für die schöne Zeit und die Hilfe im Labor bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Gisela Grupe und meinen Kollegen.

Für die finanzielle Förderung im Rahmen eines Postgraduiertenstipendiums möchte ich mich bei der Friedrich-Ebert-Stiftung bedanken.

Abschließend möchte ich mich noch bei meinen Freunden, meiner Freundin und meiner Familie bedanken. Vielen Dank Natalie, Steffi, Monika und Alfred für eure Unterstützung.