

Originalarbeiten—Original Papers

Bestimmung des Kerngeschlechts an biologischen Spuren

Forensischer Beweiswert und Anwendungsbereich

Bernd Brinkmann und Uwe Jobst* **

Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Hamburg (BRD)

Eingegangen am 14. Januar 1973

Sex Determination in Biological Stains

Forensic Conclusiveness and Scope

Summary. The presence of the Y chromosome in human interphase nuclei as a fluorescent body is demonstrated by using quinacrine dihydrochloride as stain. In 51 fresh (up to 4 weeks old) blood stains examined the proportion of cells showing the Y body varied between 12.5 and 50%. In older blood stains, stored at room temperature, a male index could be observed up to 28 months of storage time. Sex of skin cells that were scraped off from ten dead bodies was identified also. Counting of Y bodies of hair root cells of the head and of the pudendum gave unequivocal results in 31 individuals tested. The scope in the different forensic fields is discussed. It is concluded that the new method can be used by an experienced investigator as a reliable tool in stain identification cases.

Zusammenfassung. Die Anwesenheit des Y-Chromosoms in menschlichen Interphasekernen als fluoreszierendes Körperchen wird mit dem Farbstoff Quinacrin-Dihydrochlorid nachgewiesen. 51 frische Blutspuren — Spurenalter bis zu 4 Wochen — besaßen einen Y-Körperchen-Index zwischen 12,5 und 50%. Bei älteren gelagerten Spuren konnten „männliche“ Indices noch bis zu 28 Monaten nachgewiesen werden. Aus Zellen von abgekratzter Leichenhaut war die Bestimmung der Geschlechtszugehörigkeit ebenfalls möglich. Die eindeutigsten Ergebnisse wurden durch Auszählung der Haarwurzelzellen von 31 Personen erzielt. Anwendungsbereich und forensischer Beweiswert werden diskutiert.

Key words: Geschlechtsbestimmung — Spurenkunde, Geschlechtsbestimmung.

Durch Fluorochromierung von Interphasekernen konnten Caspersson *et al.* (1970a) sowie Pearson *et al.* (1970) nachweisen, daß das (wahrscheinlich genetisch inaktive und daher teilweise in kontrahiertem Zustand befindliche) Y-Chromosom als hell fluoreszierender Punkt (Y body) gegenüber der übrigen, wesentlich schwächer fluoreszierenden Kern-DNS auszumachen ist. In der Folgezeit haben zahlreiche Untersucher (Müller *et al.*, 1971; Schwinger, 1971, 1972; Schwinger *et al.*, 1971; Francois *et al.*, 1971; Radam u. Strauch, 1971; Herbich u. Meinhart, 1971; Kovacs *et al.*, 1972) auf die verschiedenen Möglichkeiten der forensischen Anwendbarkeit dieses neuen Verfahrens hingewiesen. Vorliegende Untersuchungen wurden durchgeführt, um verschiedene Gesichtspunkte des forensischen Beweiswertes, des Anwendungsspektrums und der zeitlichen Nachweisgrenzen an älterem Material abzuklären.

* Herrn Professor Dr. med. Berthold Mueller zum 75. Geburtstag.

** Wir danken Herrn Dr. E. Schwinger, Institut für gerichtliche Medizin der Universität Bonn, für die freundlichen Ratschläge und Hinweise hinsichtlich der Methodik.

Materialien und Methoden

Die Anfertigung der Präparate und ihre Auswertung erfolgt in enger Anlehnung an die von Schwinger *et al.* (1971) und Schwinger (1972) beschriebenen Techniken. Bezüglich der Einzelheiten sei auf diese Arbeiten verwiesen. Fixierung der Präparate erfolgt mit 25% Essigsäure. Fluorochromierung mit Quinaerin-Dihydrochlorid. Bei Blutspuren werden nur Lymphozyten ausgewertet. Der Prozent-Zellindex ergibt sich aus dem Quotienten Y-Körperchen-Zellen zur Gesamtzahl. Indices über 10% werden als „männlich“ gewertet.

Blutspuren. Zur Abklärung der diagnostischen Sicherheit wurden nach Durchführung eines Übungsprogramms (Doppelblindversuch), welches zur Einarbeitung und anschließenden Selbstkontrolle dienen sollte, 51 Spuren (Lagerungszeit bei Raumtemperatur bis zu 4 Wochen) von den verschiedensten Trägern (Glas, Stoff, Papier, Holz, Erde, Gras, Epidermis) auf Geschlechtsgleichheit untersucht. 10 Spuren waren künstlich angelegt, die übrigen stammten aus Routineuntersuchungen für hamburgische Ermittlungsorgane. Eine Verifikation der Geschlechtsgleichheit bei der zweiten Gruppe konnte in einem Teil durch einwandfreie polizeiliche Ermittlung (z. B. nur männliche Täter), zum anderen durch zusätzliche serologische Untersuchungen (z. B. Übereinstimmung in seltenen Markierern) erfolgen.

Blutspurenalter. 14 Blutspuren männlicher Herkunft — die Lagerungszeit betrug minimal 9 Monate, maximal 3½ Jahre — sowie 5 Blutspuren weiblicher Herkunft — zwischen 5 und 15 Monaten gelagert — befanden sich (überwiegend bei Raumtemperatur) auf verschiedenen Spurenträgern: Glas, Papier, Stoff.

Andere Zellen. Ausgerissene Kopfhaarproben von 11 männlichen und 10 weiblichen Probanden, weiterhin Schamhaarproben von je 5 Individuen beiderlei Geschlechts waren bis zu 1 Woche alt. — Von 10 (bis 1 Tag Liegezeit) Leichen beiderlei Geschlechts wurden mittels Metallspatel (fingernagelförmig) Hautproben abgekratzt und diese auf dem Objekttträger mit 25% Essigsäure überschichtet. Nach 10- bis 20minütiger Einwirkungsdauer wurde der Breikräftig gequetscht. — Entkalkte Knorpelschnittpräparate (Schnittdicke bis 8 µ) von 5 Leichen beiderlei Geschlechts wurden ebenfalls untersucht.

Ergebnisse

Blutspuren männlicher Herkunft wiesen eine Gesamtschwankungsbreite des Zellindex zwischen 12,5 und 50% auf (Abb. 1). „Weibliche“ Spuren wiesen eine geringe Schwankung zwischen 0 und 7,9% auf (Abb. 1).

Das Alter der Blutspuren zeigte einen unsystematischen Einfluß (Abb. 3). „Männliche“ Befunde waren noch nach 28monatiger Lagerungszeit erhebbar. Da-

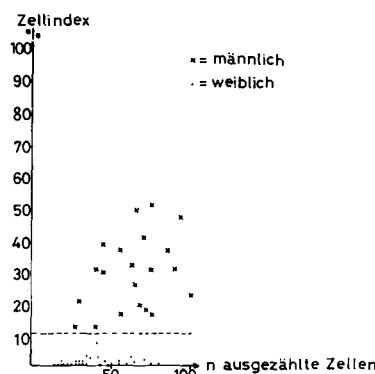


Abb. 1. Fluoreszenzindices in 51 Blutspuren, Lagerungszeit bis 4 Wochen, verschiedene Spurenträger, unterschiedliche Spurenverursacher

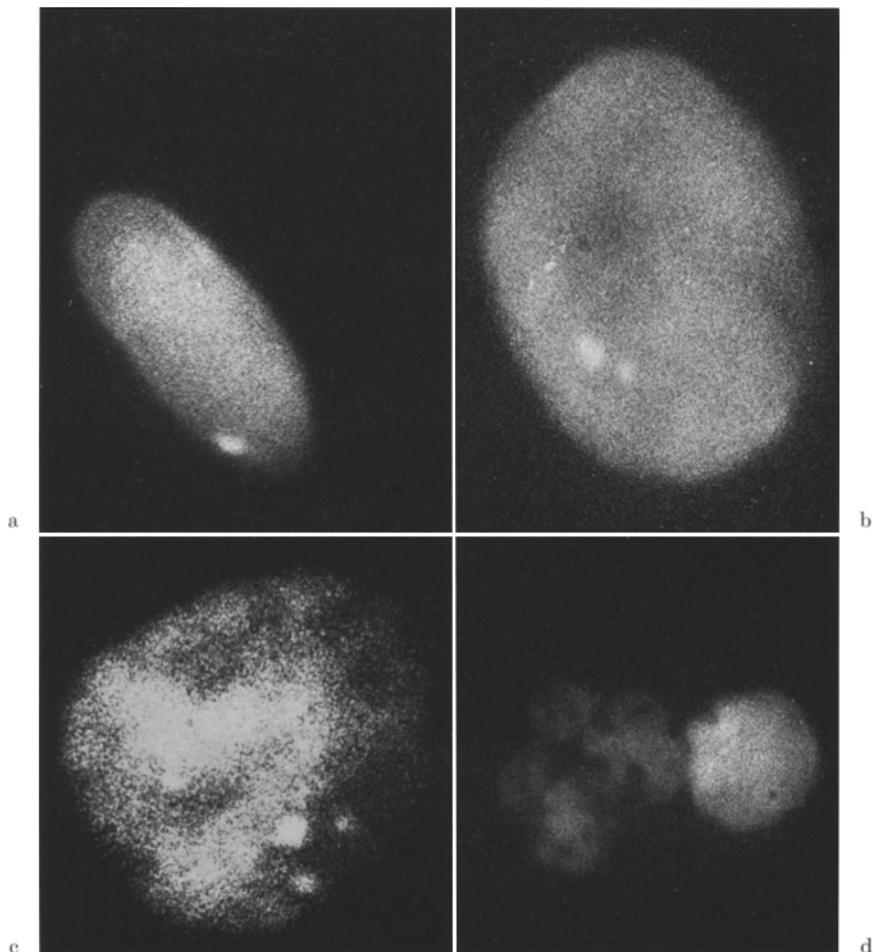


Abb. 2a—d. Zellkerne mit und ohne Fluoreszenzkörperchen. a Haarwurzelzelle mit Fluoreszenzkörperchen. b Haarwurzelzelle mit Doppel-Körperchen. c Haarwurzelzelle mit Dreifach-Körperchen. d Fluoreszenznegativer Lymphocyt und Granulocyt

nach kam es zum Absinken der Indices auf 0 bzw. „praktisch Null“. Die älteren Blutspuren weiblicher Herkunft ergaben reguläre Resultate.

Bei Kernen männlicher *Haarwurzelzellen* fand sich ein durchschnittlicher Index von 60—70%, bei weiblichen unter 5%. Das Auffinden von 10 „männlichen“ Zellen unter 15 ausgewerteten wurde daher für ausreichend befunden; alternativ das Auffinden 30 „negativer“ Kerne für die Diagnose „weiblich“. Fehldiagnosen wurden nicht gestellt. Gelegentlich waren statt eines „body“ Verdoppelungen oder Verdreifachungen mit enger topographischer Beziehung zueinander zu beobachten (Abb. 2).

Die *Epidermiszellpräparate* waren schwieriger zu beurteilen, weil eine Überlagerung mehrerer Zellschichten häufig die Auszählung erschwerte. Es wurde daher so vorgegangen, daß das Vorhandensein von 5 „männlichen“ Zellen in einem Ver-

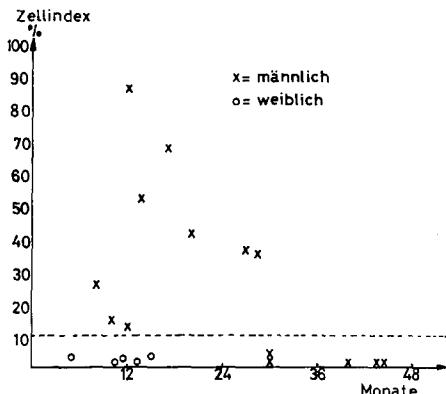


Abb. 3. Fluorescenzindices bei alten Spuren bekannten Geschlechts

band mit der Diagnose „männlich“ bewertet wurde. Fehldiagnosen wurden nicht beobachtet.

Die Auswertung der *Knorpelzellen* blieb ohne Erfolg. Einerseits wirkte sich die fluoreszierende Grundsubstanz störend aus, zum anderen waren in den sicher erkennbaren (angeschnittenen) Zellkernen „bodies“ nicht auszumachen.

Diskussion

Blutspuren. Müller *et al.* (1971) fanden bei der Auswertung von u. a. 20 „männlichen“, angetrockneten Blutspuren (Lagerungszeit bis 32 Tage) Fluorescenzindices zwischen 15 und 60%. Sie werteten Leukocyten aus. Schwinger (1972), der die Auswertung nur der Lymphocytenkerne vornimmt, fand bei bis 30 Tage alten Spuren männlicher Herkunft Fluorescenzindices von 20—30%, am 31. Tag bei einer männlichen Spur (auf Glas) keine „Y bodies“. An 64 Tage alten Proben auf Stoff fand er bei allen Proben noch reguläre Befunde. Bei den hier durchgeföhrten Untersuchungen — Gesamtvarianz bei männlichen Spuren 12,5—50% (bei alten Spuren maximal 85%) sowie „männliche“ Fluorescenzindices noch nach 28monatiger Lagerung — wurden trotz ähnlicher oder gleicher Methodik andere Resultate erzielt. Die höhere Gesamtvarianz mag durch die höhere Probenzahl, von unterschiedlichen Verursachern stammend, auf unterschiedlichen Trägern befindlich, bedingt sein (Schwinger $n = 10$ Proben; Müller *et al.* $n = 20$ Proben).

Die Unterschiede hinsichtlich der zeitlichen Nachweisgrenzen bedürfen zusätzlicher Überprüfung. Eine echte Abhängigkeit vom Spureenträger war in den vorliegenden Untersuchungen nicht nachweisbar, desgleichen keine kontinuierliche, zeitabhängige Index-Abnahme. Die Beobachtung, daß männliche Spuren (unterschiedlicher Herkunft!) noch nach 28 Monaten fluorescenzpositiv waren, andere nach 30 Monaten eindeutig negativ, lässt daran denken, daß bei Untersuchung größerer Zahlen — entsprechend der Beobachtung von Schwinger (1972) — sich einige männliche Spuren finden lassen, welche bereits bei relativ geringem Spurenalter fluorescenznegativ sind.

Aus der Abb. 1 ergibt sich weiterhin in einigen Fällen eine relativ starke Nähe zwischen männlichen Mustern mit geringen Indices und weiblichen Mustern mit

hohen Prozentzahlen. Obwohl eine Überlappung fehlt, erscheint es ratsam — je nach Ergebnis des eigenen Laborscreenings —, eine Indifferenzzone zu legen; im hiesigen Fall für Werte zwischen 5 und 10%. Die Vermutung von Schwinger (1971), daß ein zusätzlicher body auch durch ein stark fluorescierendes Autosom (in 14% der positiven Zellen dort) hervorgerufen werden kann, rät auch auf der weiblichen Seite zur Vorsicht.

Aus den oben aufgezeigten Gründen ergibt sich bereits die Notwendigkeit der Übung des Untersuchers. Hinzukommend sei auf die interindividuellen Differenzen hinsichtlich Leuchtintensität, Kontraktionszustand und Größe der Y-Chromosomen hingewiesen (z. B. Caspersson *et al.*, 1970 b), welche wahrscheinlich auch Ursache der unterschiedlichen Indices und Körperchengrößen sind.

Zur Frage des Beweiswertes der Methode zur Beurteilung von Blutspuren ergibt sich, daß — Erfahrung vorausgesetzt — bei eindeutig positiven Befunden die Diagnose „männlich“ durchaus sicher gestellt werden kann. Die Diagnose „weiblich“ sollte u. E. erst nach Auswertung einer relativ großen Zellzahl, bei bekanntem, geringem Spurenalter und nach Ausschluß anderer Störfaktoren mit ausreichender Sicherheit gestellt werden.

Haarwurzelzellen. Die Untersuchungen von Haarwurzelzellen führte bei allen Untersuchern zu eindeutigen Ergebnissen (Engel *et al.*, 1971; Schwinger *et al.*, 1971; Francois *et al.*, 1971; Goday *et al.*, 1971). Bei Vorhandensein von Zellen der Wurzelscheide (nur ausgerissene Haare!) ist daher die Auswertung einfach; das gleiche gilt für Schamhaare. Systematische Untersuchungen zur Abhängigkeit vom Spurenalter stehen noch aus.

Eine Bewertung auch fluorescenznegativer Befunde bei wenige Tage alten Spuren sollte daher bei Vorliegen von ausreichenden Zellzahlen sicher möglich sein.

Zellen anderer Herkunft wurden von mehreren Autoren untersucht (Radam u. Strauch, 1971; Herbich u. Meinhart, 1971; Kovacs *et al.*, 1972; Cramer u. Hansen, 1972). Einigkeit besteht darin, daß isolierte Zellen (bzw. Verbände) besser zu beurteilen sind. Bei forensisch wichtigen Geweben — z. B. Haut und Knorpel — ist die Isolierung einzelner Zellen im praktischen Fall schwierig. Bei Haufketzen gelingt die Diagnose auch aus dem Verband, während zur Beurteilung von Knorpelzellen wohl erst die Grundsubstanz verflüssigt werden müßte.

Der gesamte *Anwendungsbereich* der neuen Methode in der forensischen Medizin ist noch nicht abzusehen. Aus der hiesigen Routine seien nur einige Punkte erwähnt: Frauenmord — gezielte Suche nach männlichem Blut am Tatort, gezielte Suche nach männlichen Epidermiszellen unter den Fingernägeln des Opfers etc. — Schutzbehauptung, das Blut an der Kleidung des Täters stamme von dem (männlichen) großen Unbekannten; es handelte sich aber um weibliches Blut. Geschlechtsbestimmung von Rauchern (Kippen), von Erpressern (Briefkuverts) usw.

Literatur

- Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C., Lindsten, J., Hulten, M.: Fluorescent staining of heteropycnotic chromosome regions in human interphase nuclei. *Exp. Cell Res.* **61**, 472 (1970 a).
 Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C., Modest, E. J.: Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents. *Chromosoma (Ber.)* **30**, 215 (1970 b).

- Cramer, H., Hansen, S.: On the Y fluorescense in human male fibroblasts. *Humangenetik* **17**, 23 (1972).
- Engel, E., Moore, K., McGee, B. J., Engel, M. L.: Fluorescent male sex chromatin in hair root cells. *Sth. med. J. (Bgham, Ala.)* **64**, 161 (1971).
- Francois, J., Matton-van-Leuven, M. Th., Acosta, J.: Male and female sex determination in hair roots. *Clin. Genet.* **2**, 73 (1971).
- Goday, C., Egozeueuy, J., Bafall, E.: Sex-chromatin fluorescense in hair-root cells. *Lancet* **1971 II**, 220.
- Herbich, J., Meinhart, K.: Fluoreszenzoptischer Nachweis des Y-Chromosoms in isolierten Gewebszellkernen. *Ärztl. Lab.* **18**, 328 (1972).
- Kovacs, M., Harsanyi, L., Sellyei, M.: Y-body in cell nuclei of parenchymatous organs. *Z. Rechtsmedizin* **71**, 104 (1972).
- Müller, H., Bühler, E. M., Voegelin, M. G., Stalder, G. R.: Eine neue Methode der Geschlechtsbestimmung in Leukozyten aus eingetrockneten Blutflecken. *Schweiz. med. Wschr.* **101**, 1171 (1971).
- Pearson, P. L., Borrow, M., Vosa, C. G.: Technique for identifying Y-chromosomes in human interphase nuclei. *Nature (Lond.)* **226**, 78 (1970).
- Radam, G., Strauch, H.: Lumineszenzmikroskopischer Nachweis des Y-Chromosoms in Knochenmarkszellen — eine neue Methode zur Geschlechtserkennung an Leichenmaterial. *Krim. u. forens. Wiss.* **6**, 149 (1971).
- Schwinger, E.: Neue Methoden zur Geschlechtsbestimmung. *Krim. u. forens. Wiss.* **6**, 145 (1971).
- Schwinger, E.: Geschlechtsbestimmung aus Blutspuren. *Z. Rechtsmedizin* **70**, 157 (1972).
- Schwinger, E., Rakebrand, E., Müller, Hj., Bühler, E. M., Tettenborn, U.: Y-body in hair roots. *Humangenetik* **12**, 79 (1971).

Priv.-Doz. Dr. B. Brinkmann
Institut für gerichtliche Medizin
und Kriminalistik der Universität
D-2000 Hamburg 54, Butenfeld 34
Bundesrepublik Deutschland