

Originalarbeiten / Original Works

**Nachweis von Gammaglobulin- und Inv-Merkmalen
im Sperma und Speichel
sowie von Haptoglobin im Sperma**

W. Schwerd und H. D. Fehrer

Institut für Rechtsmedizin der Universität, Versbacher Landstraße 87, D-8700 Würzburg,
Bundesrepublik Deutschland

**The Detection of Gamma Globulin and Inv-Factors in Semen and Saliva
and of Haptoglobins in Semen**

Summary. Gm 1-, 2-, and Inv 1-factors can be demonstrated in semen and saliva. For the examination of traces it is necessary to verify the suitable dilutions for the different charges of antisera and to test the eluates of the samples if they have a sufficient concentration. We observed some incorrect negative results in seminal and saliva stains which were apparently caused by insufficient material. The demonstration was independent of the secretor type. Haptoglobin could not be determined in semen and saliva.

Key words: Semen, Detection of immunoglobulins and haptoglobins – Saliva, detection of immunoglobulins

Zusammenfassung. Gm 1-, 2- und Inv 1-Merkmale sind im Sperma (und Speichel) nachweisbar. Bei Spurenuntersuchungen ist es jedoch dringend notwendig, die für die jeweiligen Antiserenchargen geeigneten Verdünnungen vorher zu testen und die Probeneluate zu prüfen, ob sie die nötige Konzentration aufweisen. Bei Sperma- und Speichelstichen waren mehrfach falsch negative Ergebnisse zu beobachten, die offensichtlich auf zu geringe Materialmengen zurückzuführen waren. Der Nachweis war unabhängig vom Sekretorstatus. Haptoglobin konnte in Sperma und Speichel nicht nachgewiesen werden.

Schlüsselwörter: Sperma, Nachweis von Gammaglobulin und Haptoglobin – Speichel, Nachweis von Gammaglobulin

Auf die Wichtigkeit des Nachweises von Individualeigenschaften zur Überführung oder zum Ausschluß Tatverdächtiger bei Sittlichkeitsverbrechen wurde bereits in einer vorangehenden Arbeit über den Nachweis von erblichen Enzym-

eigenschaften im Sperma hingewiesen (Schwerd und Fehrer). Der Nachweis von erblich determinierten polymorphen Eigenschaften im Bereich der Immunglobuline geht auf Grubb sowie Grubb und Laurell (1956) zurück. Inzwischen kennt man 26 Gm-Merkmale und 3 Inv-Merkmale. In der Praxis der Abstammungsbegutachtung werden vorwiegend die Merkmale Gm 1, Gm 2 und Inv 1 herangezogen. Sie werden mittels eines Agglutinationshemmtestes nachgewiesen. Schon bald hat man festgestellt, daß diese Merkmale auch im Sperma und Speichel auftreten. Allerdings war man zunächst der Meinung, daß sie in diesen Sekreten nur bei Ausscheidern auftreten (Klose und Schraven, 1961). Andere Autoren fanden keine Gm-Merkmale im Speichel bzw. Sperma (Fünfhausen u. Mitarb.; Krämer, Nielsen und Henningsen). Blake und Sensabaugh fanden Gm- und Inv-Eigenschaften im Samenplasma, nicht dagegen im Spermersediment. Davie und Kipps beschrieben den Nachweis von Inv 1 in Sperma und Speichel. Sie fanden jedoch mehrfach falsch negative, vereinzelt auch falsch positive Ergebnisse. Jorch und Oepen wiesen Gm- und Inv-Eigenschaften im Sperma, Scheiden- und Nasensekret nach. In Speichelflecken fanden sie nur Inv-Substanz. Mehrfach wurde auf die große Stabilität der Gm-Eigenschaften hingewiesen (vgl. z. B. Jorch und Oepen).

Leonhardt fand das Merkmal Gm 1 in Spermaflecken von AB0-Ausscheidern. Er weist auf unspezifisch positive Ergebnisse hin, die dadurch bedingt sein können, daß Trägermaterial (Leinen) Antiserum absorbiert. Davie und Kipps berichteten über gelungenen Inv-Nachweis in Sperma- und Speichelflecken. Jorch und Oepen haben Inv 1 in Sperma- und Speichelflecken nachweisen können.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Die Untersuchungen erfolgten mit dem Hämaggelutions-Hemmtest. D-positive Erythrozyten (O, R.R₁, M-neg., s-neg.) werden mit den entsprechenden Anti-D- Gm- bzw. Inv-Antisera beladen und davon eine ca. 2%ige Suspension hergestellt.

Die Sperma- und Speichelproben wurden unverdünnt bzw. in verschiedenen Verdünnungen angewendet. In der Regel wurden sie unverdünnt genommen. Die Anti-Gm- bzw. Inv-Seren wurden 1:4 verdünnt. Bei manchen Chargen waren andere Verdünnungen notwendig.

Je ein Tropfen Testerythrozytensuspension und Sperma- (bzw. Speichel-) -Anti-Gm- (bzw. Inv)-Gemisch wurden auf Lauerplättchen gemischt und kurze Zeit hin- und herbewegt. Die Ablesung der Reaktion muß nach ca. 15 min erfolgen.

Die untersuchten Spermaproben bzw. abzentrifugiertes Spermaplasma wurden eingefroren und kurz vor der Untersuchung wieder aufgetaut, weil sie nicht sofort untersucht werden konnten. Mit den Speichelproben wurde größtenteils ebenso verfahren, mehrere Proben wurden jedoch im Kühlschrank aufbewahrt. Diese Verfahrensweise wurde gewählt, da Davie und Kipps von einer Verminderung der Anzahl falsch negativer Ergebnisse im Speichel berichteten, wenn sie diesen eingefroren und wieder aufgetaut hatten. Sie führten die im nativen Speichel auftretenden unspezifischen Agglutinationen auf dessen hohe Viskosität zurück.

Sperma- bzw. Speichelflecken wurden im allgemeinen in einer Größe von 1 bis 1,5 cm² (auf Leinen aufgetragen) untersucht. Die Stoffstückchen wurden vorher fein zerschnitten und mit 6 Tropfen einer 5%igen Ammoniaklösung mindestens 96 Std bei 4°C eluiert. Speichel, Sperma, Spermaplasmen und Fleckeneluete wurden wie 1:10 verdünntes Blutserum weiter behandelt. Die Anti-Gm-Seren wurden in einer Verdünnung von 1:4 bis 1:8, das Anti-Inv-Serum in Verdünnungen von 1:5 bis 1:10 (mit 0,9%iger NaCl-Lösung) angewendet.

Diskussion der Ergebnisse

Die Merkmale Gm 1 und Gm 2 sowie Inv 1 sind im Sperma mit dem gleichen Muster wie in den homologen Blutproben nachzuweisen. Durch unsere Untersuchungen sind die Angaben einiger Autoren, wonach Gm- und Inv-Merkmale im Sperma nicht vorkommen, widerlegt. Die Frage der Nachweisbarkeit von Gm- und Inv-Merkmalen ist ein methodisches Problem. Bei früheren (bisher unveröffentlichten) Untersuchungen im Institut für Rechtsmedizin der Universität Würzburg hat sich gezeigt, daß Sperma und Speichel nicht oder höchstens bis 1:4 verdünnt werden dürfen, während die Anti-Gm- bzw. Inv-Seren verdünnt werden müssen. Die geeigneten Konzentrationsverhältnisse wird man am besten für die jeweilige Antiseren-Charge selbst ermitteln (s. u.).

Unsere Ergebnisse sind in der Tabelle 1 dargestellt. Die Sperma- und Speichelproben waren 1 bis 3 Wochen alt, die Flecken 2 bis 7 Wochen. Bei den Proben Nr. 28 bis 37 wurde, nachdem sich gezeigt hatte, daß unterschiedliche Befunde zwischen Gesamtperma und Spermoplasma nicht zu erwarten sind, nur noch abzentrifugiertes Spermoplasma untersucht. Die Untersuchung erstreckte sich jeweils auf die Merkmale Gm 1, Gm 2 und Inv 1, bei den Flecken nur auf Gm 1 und Gm 2. Zur Sicherung des Vorhandenseins von genügend gelöstem Gamma-globulin wurde jeweils nach dem Verfahren von Ouchterlony der IgG-Nachweis geführt.

Wie aus der Tabelle 1 hervorgeht, wurden in 37 *Spermaproben* 33mal die Phänotypen übereinstimmend mit denen des Blutes bestimmt. In 3 Fällen war die Reaktion nicht exakt ablesbar. Die Agglutination war nur schwach ausgeprägt. Eindeutig falsche Befunde wurden nicht erhoben.

In den 15 Fällen, in denen Spermoplasmaproben untersucht wurden, waren übereinstimmende Ergebnisse mit den in den entsprechenden Blutproben nachgewiesenen Merkmalen festzustellen. Hier waren keine unklaren Befunde zu erkennen.

Die 27 *Speichelproben* zeigten 23mal mit dem Blut übereinstimmende Ergebnisse. Einmal konnte der Typ nicht eindeutig festgestellt werden, 3mal waren die Ergebnisse falsch negativ. Auffallend war, daß dies nur bei Proben der Fall war, die vorher nicht eingefroren worden waren. Die Feststellungen von Davie und Kipps (s. o.) wurden somit bestätigt.

Die *Untersuchung von Flecken* ergab folgendes: Unter 31 *Spermaflecken* war in 28 Fällen ein mit dem Blut (bzw. Serum) übereinstimmendes Ergebnis zu erzielen. Von den 28 *Speichelflecken* zeigten 24 übereinstimmende Ergebnisse. In den 6 Fällen, in denen ein falsch negatives Ergebnis ermittelt wurde, war dies nach dem Ausfall des Ouchterlony-Tests auf eine zu geringe Konzentration von Gm-Substanz zurückzuführen (vgl. auch Schwerd und Mad). In einem Fall war ein falsch positives Ergebnis (Gm 2) festzustellen. Eine Abhängigkeit des Gm- bzw. Inv-Nachweises vom Sekretorstatus fanden wir im Gegensatz von Leonhardt nicht.

Haptoglobin. Leithoff u. Mitarb. (1961/62) konnten in Spermoplasma nach Einengung durch Konzentrationsdialyse und Ultrafiltration immunelektrophoretisch α_2 -Globuline nachweisen. Prokop und Bundschuh (1963) fanden in Sperma- und

Tabelle 1. Ergebnisse des Gm1-, Gm2- und Inv-Nachweises in Sperma und Speichel

Lfd. Nr.	Aus- scheider	Serum	Gesamtsemen	Speichel	Speichel- flecken	Alter der Flecken
		Gm1 Gm2 Inv1	Gm1 Gm2 Inv1	Gm1 Gm2 Inv1	Gm1 Gm2	Gm1 Gm2
1	Se	-	-	21 T	-	7 Wo
2	Se	-	-	21 T	+	7 Wo
3	sc	-	-	21 T	-	7 Wo
4	Se	-	-	21 T	-	7 Wo
5	Se	-	-	21 T	-	7 Wo
6	Se	-	-	21 T	-	7 Wo
7	Se	-	+	21 T	-	7 Wo
8	se	-	-	21 T	-	7 Wo
9	Se	-	-	21 T	-	7 Wo
10	Se	-	-	14 T	-	7 Wo
11	Se	-	-	14 T	-	7 Wo
12	Se	-	-	14 T	-	7 Wo
13	se	-	-	14 T	+	7 Wo
14	Se	-	-	14 T	-	7 Wo
15	Se	-	-	14 T	-	7 Wo
16	Se	-	-	14 T	-	6 Wo
17	se	-	-	7 T	+	6 Wo
18	Se	-	-	7 T	+	6 Wo
19	Se	-	-	7 T	-	6 Wo
20	Se	-	-	7 T	-	6 Wo
21	Se	-	-	7 T	-	6 Wo
22	se	-	-	7 T	-	6 Wo
23	Sc	-	-	7 T	-	6 Wo
24	se	-	-	7 T	-	6 Wo

25	se	6 Wo
26	Se	6 Wo
27	Se	
28	Se	
29	Se	
30	Se	
31	Se	
32	Se	
33	se	
34	Se	
35	Se	
36	Se	
37	Se	
38		3 Wo
39		3 Wo
40		3 Wo
41		3 Wo
42		3 Wo
43		3 Wo
44		2 Wo
45		2 Wo
46		2 Wo
47		2 Wo
48		2 Wo
49		2 Wo

?? : Es zeigte sich nur eine schwache Reaktion, die nicht klassifiziert werden konnte

L: Vom Phänotyp des Serums abweichende Ergebnisse wurden unterstrichen

T : Tage

Speichelproben mittels Stärkegelektrophorese kein Haptoglobin. Ebenso erklärten Sayce und Rees (1977), daß im menschlichen Sperma kein Haptoglobin nachweisbar sei.

Eigene Untersuchungen. Der Haptoglobulin-nachweis erfolgte in der üblichen Weise nach Auf trennung des auf Filterpapier aufgetragenen Materials mit Hilfe der Stärkegelektrophorese und bei 10 Sperma- und 7 Speichelproben zusätzlich auf immunoelektrophoretischem Wege. Serum und Spermaflüssigkeit wurden jeweils nativ verwendet. Die Speichelproben dagegen durch mehrfaches Auftragen und Wiederantrocknen auf Filtrierpapier konzentriert.

Ergebnisse

In den 23 Ejakulaten, 11 Spermaflecken und 9 Speichel-flecken konnte in keinem Fall auch nur andeutungsweise Haptoglobulin nachgewiesen werden.

Danksagung. Frau G. Egger danken wir herzlich für ihre technische Assistenz.

Literatur

- Blake, E., Sensabaugh, G.: Genetic markers in human semen. A review. J. Forens. Sci. **21**, 784—796 (1976)
- Davie, M. J., Kipps, A. E.: Km(1) (Inv(1)) typing of saliva and semen. Vox. Sang. **31**, 363—367 (1976)
- Fünhausen, G., Sagan, Z., Schramm, K.: Über den Nachweis von Gm in Blutspuren. Z. Rechtsmed. **53**, 18—27 (1962)
- Grubb, R.: Agglutination of erythrocytes coated with incomplete anti-Rh by certain rheumatoid arthritic sera and some other sera. Act. Path. Microbiol. Scand. **39**, 195—204 (1956)
- Grubb, R., Laurell, A. B.: Hereditary serological human serum group. Act. Path. Microbiol. Scand. **39**, 390—397 (1956)
- Jorch, G., Oepen, I.: Nachweis der Faktoren Gm [1, 2, 4, 5, 21] und Inv [1] in menschlichen Sekreten: Speichel, Schweiß, Nasensekret und Sperma. Z. Rechtsmed. **79**, 1—6 (1977)
- Klose, I., Schraven, J.: Die Eigenschaft Gm^a im menschlichen Sperma und ihre Beziehung zur AB0-Ausscheidereigenschaft. Z. Rechtsmed. **52**, 610—614 (1961/62)
- Krämer, K.: Untersuchungen über das Vorkommen von Gm_a-Substanz in menschlichen Geweben und extravasalen Körperflüssigkeiten. Z. Rechtsmed. **53**, 131—141 (1962/63)
- Leithoff, H., Leithoff, I.: Der Nachweis von Bluteiweißkörpern im menschlichen Samenplasma mit Hilfe der Immunoelektrophorese. Z. Rechtsmed. **52**, 523—524 (1961/62)
- Leonhardt, H.-H.: Untersuchungen über optimale Verfahren zum Nachweis von Blut- und Serumgruppenmerkmalen in Spermaflecken. Med. Diss., Marburg 1968
- Nielsen, J., Henningsen, K.: Note on the possibility of demonstrating the Gm-factors in semen. Med. Sci. Law. **3**, 272—281 (1963)
- Prokop, O., Bundschuh, G.: Die Technik und die Bedeutung der Haptoglobine und Gm-Gruppen in Klinik und Gerichtsmedizin. Berlin: Walter de Gruyter & Co. 1963
- Sayce, M., Rees, B.: The immunological analysis of semen. Med. Sci. Law. **17**, 213—222 (1977)
- Schwerd, W., Mad, G.: Beitrag zur Vaterschaftsbegutachtung durch Klärung der Genotypen im Gm-System. Beitr. Gerichtl. Med. **XXX**, 403—405 (1973)