

(Aus dem Gerichtlich-Medizinischen Laboratorium des Volkskommissariats für Gesundheitspflege der Ukraine — Vorstand des Laboratoriums: *V. N. Krainskaja-Ignatowa* — und dem Laboratorium der Ständigen Kommission für Blutgruppenforschung — Vorstand: Prof. Dr. *V. J. Rubaschkin*.)

Über die Gruppeneigenschaften des Spermas*. (Zur Frage der individuellen Zugehörigkeit von Samenflecken.)

Von

V. N. Krainskaja-Ignatowa (Charkow).

Die Lehre von den Isoagglutinationsgruppen ist bis vor jüngster Zeit beinahe ausschließlich mit der Untersuchung der Gruppeneigenschaften des Blutes verbunden gewesen.

1910—1911 haben *v. Dungern*, *Hirszfeld*³ und *Halpern*⁴ an Immunisierungsversuchen bei Hunden gezeigt, daß nicht allein die Erythrocyten, sondern auch die Organgewebe Gruppeneigenschaften besitzen. 1927 wurde von *Witebsky* und *Okabe*¹¹, von *Kritschewsky* und *Schwarzmann*⁷ festgestellt, daß „fixierte Zellen“, d. h. die Zellen der Organe und Gewebe des menschlichen Organismus auch die Gruppeneigenschaften aufweisen, welche den Erythrocyten desselben Individuums eigen sind. Das Vorhandensein von Gruppeneigenschaften in den Geweben veranlaßte *Witebsky* die Bezeichnung „Zellgruppen“ anstatt des allgemein üblichen Ausdruckes „Blutgruppen“ vorzuschlagen.

Neben dem Studium der Gruppeneigenschaften der Gewebe und Organe war die Aufmerksamkeit der Forscher auch auf die Gruppeneigenschaften anderweitiger Absonderungen des Organismus gerichtet, wie z. B. Milch, Colostrum, Speichel, Vaginalsekret und Sperma.

Die Gruppeneigenschaften des Spermas sind von hohem aktuellem Interesse für die Biologie, da die Übertragung erblicher Merkmale ja an die Eigenschaften des Spermas gebunden ist.

Praktische Bedeutung können die Gruppeneigenschaften des Sperma bei gerichtlich-medizinischen Untersuchungen gewinnen, da sie es in einer Reihe von Fällen ermöglichen, der Frage nach der individuellen Zugehörigkeit des Samens näher zu treten.

* Nach einem Vortrag, gehalten in der gemeinsamen Sitzung der Medizinischen Sektion der Wissenschaftlichen Gesellschaft an der Ukrainischen Akademie der Wissenschaften und der Ständigen Kommission für Blutgruppenforschung, 16. I. 1929.

Die Reaktion von *Dervieux*² (1923), die gestattet, nach der Intensität der Präcipitationsreaktion mit dem Serum eines mit dem Samen eines bestimmten Mannes immunisierten Kaninchens, dieses Sperma von jedem anderen zu unterscheiden, hat bis jetzt keine praktische Anwendung gefunden und die Frage nach der individuellen Angehörigkeit des Spermas ist somit offen geblieben. Die Arbeiten der Japaner *Jamakami*⁵ und *Shirai* und der Amerikaner *Landsteiner* und *Levine*⁸ haben den Weg zur Lösung dieses Problems angebahnt.

Jamakami stellte die Gruppeneigenschaften des Spermas mittels des Verfahrens der spezifischen Adsorption fest, wobei er in seinen Versuchen jedes Sperma abwechselnd mit menschlichen Seren aller 4 Gruppen behandelte. Bei der Untersuchung von 49 Objekten konstatierte er durchwegs eine dem Gruppencharakteristicum des Blutes entsprechende Adsorption des Agglutinins.

Landsteiner und *Levine* prüften die Gruppeneigenschaften des Spermas in Experimenten mit Adsorption gruppenspezifischer Kaninchenimmunsera.

In unseren Versuchen bestand das Studium des Spermas einerseits in der Feststellung der Gruppeneigenschaften des Samens per se, andererseits darin, daß wir die Möglichkeit prüften, die Gruppenzugehörigkeit von Sperma in Flecken zu bestimmen. Wir nehmen an, daß Untersuchungen dieser Art eine große Bedeutung für die gerichtliche Medizin erreichen dürften, wenn die betreffende Methodik ausgearbeitet sein wird.

Als Versuchsobjekt gebrauchten wir Sperma, das ins Laboratorium zwecks spezieller gerichtlich-medizinischer Untersuchung eingeliefert wurde und auch solches, das uns die experimentelle Abteilung des venerologischen Institutes Charkow (Direktor Priv.-Doz. *A. N. Fedorowsky*) überließ.

Wir gebrauchten aber auch zu unseren Untersuchungen Sperma, das aus den Samenbläschen von Leichen stammte, die in der Prosektur des I. Sowjet-Krankenhauses (Dr. *W. R. Meyer*) zur Obduktion gelangten.

Parallel mit der Untersuchung des Spermas bestimmten wir stets die Gruppe des Blutes.

Die Gruppeneigenschaften des Spermas bestimmten wir nach dem Verfahren der Adsorption, indem die agglutinogene Eigenschaft desselben nachgewiesen wurde. Für die Reaktion der spezifischen Adsorption gebrauchten wir Sera der Gruppe O, deren wir uns für die Adsorptionsreaktion an Blutflecken bedienen (*Krainskaja-Ignatowa* und *Gecker*⁶). Nur solche Sera eignen sich für die Adsorptionsreaktion, in denen die beiden Agglutinine entweder gleiche oder wenig voneinander abweichende Titer aufweisen.

Bei Adsorptionsversuchen soll man stets danach streben, daß das

Objekt das betreffende bzw. die betreffenden Agglutinine des Serums Anti-A und Anti-B vollständig adsorbieren; dies ist aber nur bei Innehaltung bestimmter Mengenverhältnisse zwischen dem Agglutininogen des Untersuchungsobjektes und den Agglutininen des Serums möglich.

Um festzustellen, wieviel Serum die Reaktion beansprucht, muß der Agglutinationstiter des Serums bestimmt werden. Den Titer der Isoagglutinine bestimmten wir nach *Mino*¹⁰).

Da Personen der nämlichen Gruppe Erythrocyten von verschiedener Agglutinabilität haben, so titrieren wir das Serum immer mit Erythrocyten derselben Personen, deren rote Blutkörperchen als Standard bei der Ablesung der Adsorptionsreaktion verwendet wurden.

Sind die Titer der Agglutinine eines Serums nicht hoch, so nehmen wir für den Versuch der Adsorption durch Sperma dieses letztere in der gleichen Menge wie das Serum; falls die Titer des Serums hoch sind (1 : 256; 1 : 512), so liefert ein solches Mengenverhältnis von Sperma und Serum keine vollständige Adsorption (wenigstens nicht im Laufe der ersten 24 Stunden), deswegen ist es notwendig, bei der Arbeit mit solchem Serum weniger davon zu gebrauchen oder das Serum zu verdünnen. Wird die Reaktion an flüssigen Objekten angestellt, so ist der Verdünnung des Serums durch das Objekt selbst Rechnung zu tragen.

Das Probierglas wird auf 24 Stunden in der Kälte gehalten, dann zentrifugiert, wonach man die Flüssigkeit mittels einer Emulsion von Standarderythrocyten A und B prüft. Die Untersuchung wird auf Objektträgern und in Probiergläsern ausgeführt.

Als Kontrolle dient das Standardserum der Gruppe O, welches neben dem zu untersuchenden Objekt auf 24 Stunden in den Eisschrank gebracht wird, wobei das Standardserum mit physiologischer Kochsalzlösung auf die gleiche Konzentration wie das Serum mit dem Sperma gebracht wird.

Arbeitet man mit Sperma per se, wenn das Quantum des Objekts, das an der Reaktion teilnimmt, genau berechnet werden kann, so bemerkt man, daß die agglutinogenen Eigenschaften verschiedener zur gleichen Gruppe gehörenden Objekte verschiedene Intensität zeigen können; wurden nämlich gleiche Mengen diverser Proben angewandt, mit demselben Quantum des nämlichen Serum der Gruppe O bearbeitet, so trat die vollständige Adsorption nicht gleichzeitig bei allen Objekten ein, einige erforderten vielmehr einen 2—3tägigen Aufenthalt im Eisschrank, bis die Adsorption sich vollzogen hatte.

Wir untersuchten 106 Objekte, von denen 81 von lebenden Personen und 25 von Leichen stammten.

Aus der Gesamtzahl gehörten 46 Objekte zur Gruppe O
38 Objekte zur Gruppe A
17 Objekte zur Gruppe B
5 Objekte zur Gruppe AB.

In 3 Fällen war Azoospermie zu verzeichnen.

In allen Fällen gehörte das Sperma zu derselben Gruppe wie das Blut. Versuche mit Sperma aus Samenbläschen boten in einigen Fällen Schwierigkeiten, weil das Material knapp war; dann verdünnten wir das Serum mit physiologischer Kochsalzlösung, um die für die Reaktion notwendige Flüssigkeitsmenge zu erhalten (Kontrollserum wurde in entsprechender Verdünnung gebraucht).

Während wir einen Teil des Sperma zu den oben geschilderten Versuchen verwandten (meist 0,5 ccm pro Experiment), machten wir aus der übriggebliebenen Samenflüssigkeit Flecken auf Zeug und ließen sie bei Zimmertemperatur an der Luft trocknen.

Untersucht wurden Flecke, die aus dem Sperma von 65 Personen angefertigt waren, dabei wurde ein Versuchsobjekt durch Abschaben von einem Ausstrichpräparat gewonnen, das im Laboratorium 7 Monate lang aufbewahrt wurde. Die Mehrzahl der untersuchten Flecke war 2 Wochen bis 3 Monate alt.

Adsorptionsexperimente mit Spermaflecken stellten wir mit Serum der Gruppe O an, das je nach dem absoluten Wert des Titers mehr oder minder stark mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurde. Das Serum wurde aus dem Grunde verdünnt, weil das Gewebe die Flüssigkeit aus dem Flecken aufgesaugt hatte; hätte man es unverdünnt gebraucht, so hätte soviel Serum aufgewandt werden müssen, daß eine vollständige Adsorption des betreffenden Agglutinins vielleicht nicht zustande gekommen wäre. Eine übermäßige Verdünnung des Serums ist aber auch zu vermeiden, weil dies eine *unspezifische* Adsorption vorpiegeln könnte.

Bei der Untersuchung des adsorbierten Serums, erhielten wir in allen Fällen bei Anwendung von Standarderythrocyten einen richtigen Ausfall der Gruppenbestimmung. In einem Kontrollprobierrglase wurde verdünntes Serum mit demselben Gewebe, aber ohne Flecken, in Berührung gebracht.

Dabei ist hervorzuheben, daß eine vollständige Adsorption des betreffenden Agglutinins bisweilen erst nach 2—3 Tagen erreicht war; wie aus unseren Versuchen ersichtlich, war dies auch ohne Hinzufügung einer neuen Menge des Objektes der Fall, was für gerichtlich-medizinische Untersuchungen besonders wichtig ist, da manchmal nur ein geringes Quantum des zu untersuchenden Stoffes vorhanden ist. In Anbetracht der Reversibilität des Adsorptionsprozesses führten wir für Samenflecken als Kontrolle die Reaktion der Absprengung des adsorbierten Agglutinins ein.

Nach erfolgter Adsorption wurde das ganze Serum ausgeschüttet, das im Probierrglase befindliche Fleckchen aber mit physiologischer Kochsalzlösung übergossen. Das Probierrglase wurde auf 10 Minuten

in den Eisschrank gebracht und die Flüssigkeit dann wieder weggegossen. Das Auswaschen wurde in solcher Weise 2—3mal wiederholt, bis das nicht adsorbierte Agglutinin entfernt war (Kontrolle mit Standarderythrocyten A und B in physiologischer Kochsalzlösung). Darauf wurde die geringste mögliche Menge physiologischer Kochsalzlösung zu dem ausgewaschenen Flecken hinzugefügt und das Ganze auf 15 bis 30 Minuten in den Thermostaten bei 45° gebracht.

Eine Untersuchung mit Standarderythrocyten zeigte die Absprengung des vom Sperma adsorbierten Agglutinins des Serums Anti-A-Anti-B. Die Absprengung lieferte uns in allen Fällen gute Ergebnisse und erlangt dadurch großen Wert als Kontrolle für die gerichtlich-medizinische Untersuchung von Samenflecken. Besonders wertvoll ist eine derartige Kontrolle in Fällen der unvollständigen Adsorption, welche die Anwesenheit der Gruppe O (Agglutination der Erythrocyten A und B) hätte vortäuschen können. Dann wird die Entscheidung durch die Reaktion auf adsorbiertes Agglutinin erbracht.

Die Adsorption und die darauffolgende Absprengung wurde von uns an Hand der folgenden Tabelle bestimmt:

Resultate der Reaktion des behandelten Serums $O\alpha\beta$ mit Blutkörperchen		Gruppe des Objekts	Absprengung des gebundenen Agglutinins	
A	B		A	B
+	+	O	—	—
—	+	A	+	—
+	—	B	—	+
—	—	AB	+	+

Da wir in der gerichtlich-medizinischen Praxis öfters kleine Spermaflecken zu untersuchen hatten, so bereiteten wir für eine Reihe von Versuchen Flecken aus einer bestimmten geringfügigen Menge Sperma; günstige Resultate ergaben Flecken, die wir aus 0,05 ccm Sperma gewonnen hatten.

Unter den ausgeführten Untersuchungen sind die 3 Fälle von Azospermie von besonderem Interesse, da es uns gelang, darin wie in normalem Sperma die Gruppe zu bestimmen.

In den Versuchen von *Jamakami* wurde die Gruppenzugehörigkeit sowohl an intaktem Sperma als auch an Samenflüssigkeit festgestellt, *Landsteiner* und *Levine* bestimmten die Gruppe an Zellsediment, zu dem physiologische Kochsalzlösung hinzugefügt war.

Außer einer Reihe von Versuchen an intaktem Sperma bestimmten wir die Gruppenzugehörigkeit auch an Samenflüssigkeit, welche mittels Sedimentieren und Zentrifugieren gewonnen wurde, und auch an Zellsediment, das mit Kochsalzlösung ausgewaschen worden war. Alle Versuche ergaben eindeutige Resultate: die Gruppe läßt sich sowohl

an dem flüssigen Teil des Spermas als an dem Zellsediment erkennen.

Die von uns ermittelten agglutinogenen Eigenschaften des Spermas legen einen biologisch äußerst wichtigen Gedanken nahe, daß es nämlich möglicherweise spezifische gruppengemäße Wechselwirkungen zwischen einem zu einer bestimmten Gruppe gehörenden Spermatozoon und einer Eizelle gibt.

Zur Klärung dieses Problems wurde eine Reihe von Versuchen angestellt, um den Einfluß von Sera verschiedener Gruppen auf bewegliche Spermatozoen zu erkennen und so der biologisch wichtigen Rolle des Faktors der Gruppenagglutination bei der Konjugation der Sexualzellen näherzutreten. Die Zahl unserer Versuche an beweglichen Spermatozoen ist leider gering geblieben, da uns meistens schon starres Sperma eingeliefert wurde. Von den mit inaktivierten Seren durchgeführten Versuchen möchten wir diejenigen hervorheben, in denen Serum der Gruppe B zu Sperma der Gruppe A (mit beweglichen Spermatozoen) hinzugefügt wurde, und solche Experimente, wo Serum der Gruppe A mit Sperma der Gruppe B in Kontakt gebracht wurde, wobei die Bewegungen der Spermatozoen bis zur vollständigen Austrocknung des Präparates fort dauerten.

Auf Grund des von *Bykow* und *Belenky*¹ erbrachten Nachweises, daß inaktiviertes oder gefrorenes Serum anders als nichtinaktiviertes auf die Spermatozoen einwirkt, unternahmen wir in einer Reihe von Versuchen das Studium der Einwirkung von nichtinaktiviertem Serum und Blutplasma verschiedener Gruppen auf die Spermatozoen.

In unseren Versuchen übte das beweglichen Spermatozoen der Gruppe A beigefügte Plasma sowohl als auch nichtinaktiviertes Serum der Gruppen B und O keinerlei Einfluß auf die Beweglichkeit der Samenfäden aus. Nach Verlauf einiger Stunden nahm ihre Beweglichkeit beim Eintrocknen des Präparates ab und hörte schließlich auf. In keinem der Versuche (in denen Sperma der Gruppe B mit Serum der Gruppe A bzw. O bearbeitet wurde), konnten wir eine Agglutination der Spermatozoen bemerken.

Außer den an Samen unternommenen Versuchen halten wir auch die Bestimmung der Gruppen an Organteilen für die gerichtliche Medizin für wichtig, weil damit die individuelle Zugehörigkeit dieser Organe bestimmt werden kann, falls eine Leiche verbrecherisch zerstückelt worden ist; außerdem könnte die Bestimmung der Gruppenzugehörigkeit einer ausgebluteten Leiche ermöglicht werden, wie in dem von *Martin* und *Rochaix*⁹ mitgeteilten Falle.

Wir nahmen von den Leichen Leber, Milz und Niere und stellten die Adsorptionsreaktion mit Serum der Gruppe O an, indem wir im übrigen die Methodik von *Kritschewsky* und *Schwarzmann* befolgten.

Untersucht wurden insgesamt 27 Leichen. Unter Innehaltung der relativen Mengenverhältnisse von Objekt und Serum wurde die Gruppenzugehörigkeit an allen Organen untersucht und erwies sich durchwegs identisch mit derjenigen des Blutes.

Günstige Resultate wurden nicht allein mit Organen aus frischen Leichen erzielt, sondern auch mit solchen Organen, die erst mehrere Tage nach der Obduktion eingeliefert wurden.

Die angestellten Versuche gestatten anzunehmen, daß das Anwendungsgebiet der Reaktion auf Isohämoagglutination in der gerichtlich-medizinischen Praxis mit der Zeit bedeutend erweitert werden und somit den Rahmen der Bestimmung der Blutgruppen beim Vaterschaftsnachweis und bei der Bestimmung der individuellen Herkunft von Blutflecken überschreiten wird.

Schlußfolgerungen.

1. Sperma besitzt die dem Blute des betreffenden Individuums eigenen Gruppenmerkmale.

2. Gruppeneigenschaften können nicht allein in unverändertem Sperma, sondern auch in Samenflecken nachgewiesen werden; hierdurch kann die individuelle Zugehörigkeit von Samenflecken in einzelnen Fällen bestimmt werden.

3. Die Möglichkeit der Gruppenbestimmung nach Organen ist von praktischer Bedeutung für die gerichtliche Medizin.

Literaturverzeichnis.

- ¹ Bykow und Belenky, Arbeiten der Tagung der Geburtshelfer der Sowjetunion 1926. — ² Dervieux, Ann. Méd. lég. etc. **1923**, Nr 8. — ³ v. Dungern und Hirszfeld, Z. Immun.forschg **8** (1910). — ⁴ Halpern, Z. Immun.forschg **11** (1911). — ⁵ Jamakami, J. of Immun. **12**, Nr 3 (1926). — ⁶ Krainskaja-Ignatowa und Gecker, Ukrain. Zbl. f. Blutgruppenforschg **3**. — ⁷ Kritschewsky und Schwarzmann, Klin. Wschr. **1927**, Nr 44. — ⁸ Landsteiner and Levine, J. of Immun. **12**, Nr 5 (1926). — ⁹ Martin et Rochaix, Ann. Méd. lég. etc. **1925**, Nr 1. — ¹⁰ Mino e Morra, Arch. Sci. med. **49**, Nr 12 (1927). — ¹¹ Witebsky und Okabe, Z. Immun.forschg **52** (1927). — ¹² Witebsky, Klin. Wschr. **1928**, Nr 3.