

## Gc-Diagnostik und Proteolyse in gelagerten Bluten, Leichenbluten und Blutspuren

U. HEIFER und M. BOLKENIUS

Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Bonn  
(Direktor: Prof. Dr. H. ELBEL)

Eingegangen am 15. Oktober 1965

Die Erweiterung der Blutgruppendiagnostik durch die genetisch determinierten „Serumgruppen“ Gm ( $\gamma$ -Globulingruppen), Hp (Haptoglobingruppen) und Gc (gruppenspezifische Komponenten im  $\alpha_2$ -Globulinbereich) (Abb. 1) wirft die Frage nach der Nachweisbarkeit dieser

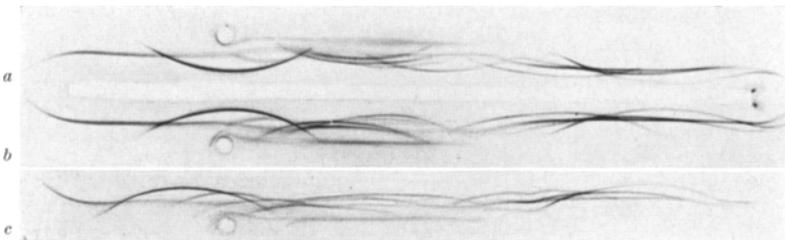


Abb. 1. Immunelektrophoretische Darstellung der Gc-Typen 1—1 (a), 2—2 (b) und 2—1 (c) in frischen Seren

Gruppen in gelagerten Bluten, Leichenbluten und Blutspuren auf. Während die Gm-Gruppen ausgezeichnete und die Haptoglobine nur sehr begrenzte Bestimmungsmöglichkeiten in Blutspuren zeigen (DUCOS, RUFFIE, VARSÌ; DÜRWARD; GRUBB; GRUBB und LAUERLL; HALLERMANN und STÜRNER; HARBOE; HARBOE und LUNDEVALL; PROKOP und BUNDSCHUH; VOGEL), liegen über die Haltbarkeit und Nachweismöglichkeit der Gc-Gruppen (HIRSCHFELD) in Spuren, alten und Leichenbluten erst geringe Kenntnisse vor.

NERSTROM und JENSEN erkannten bei immunoelektrophoretischen (i.e.) Blutspurenuntersuchungen, daß die Gc-Substanzen in Spuren sehr labil seien und nach Lagerung recht schnell Abschwächungen und Formveränderungen sowie elektrophoretische Verschiebungen in dem  $\alpha_1$ -Globulinbereich erfahren. Die von ihnen beobachteten, in atypischer Weise im  $\alpha_1$ -Globulinbereich lokalisierten Präcipitate seien mit dem Gc-Präcipitat identisch und bei ungünstiger Lagerung durch eine beschleunigte elektrophoretische Beweglichkeit entstanden. Nachweis und Differenzierung von Gc-Typen gelangen ihnen in Blutspuren bis zu einer Lagerungszeit von knapp 2 Tagen, in Serumspuren 1—2 Monate lang nach dem Anlegen der Spuren.

In i.e. Untersuchungen an Seren mit schwachen Gc-Präcipitaten sahen wir, daß die Gc-Substanz auch nach Eintrocknung bei Zimmertemperatur ohne Berücksichtigung steriler Lagerungs- und Arbeitsbedingungen über längere Zeit nachweisbar blieb (HEIFER). Sie erwies sich einerseits in kühl ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) gelagerten Seren monatelang als stabil und nachweisbar; zum anderen konnte jedoch in einzelnen Seren schon nach wenigen Tagen eine deutliche Verminderung der Präcipitationsstärke und -scharfe festgestellt werden.

H. LEITHOFF und I. LEITHOFF beobachteten in i.e. Untersuchungen über den Einfluß der Proteolyse auf die Differenzierbarkeit von Proteinen fauler Leichenblute und jahrelang gelagerter Blutproben eine unterschiedliche Stabilität der einzelnen Serumproteine gegenüber Fäulnis und Autolyse: „Am beständigsten ist das Albumin, dann folgen  $\gamma$ -Globulin,  $\alpha_2$ -M-Globulin, Transferrin und Fibrinogen. Die große Zahl der feinen Präcipitate, die im frischen Serum den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulinbereich charakterisieren, wird durch Fäulnis und Autolyse schon bald ausgelöscht.“ Sie wiesen darauf hin, daß die Proteolyse „bei erhaltener Antigenstruktur eine unterschiedliche elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit und ein abgewandeltes Diffusionsvermögen“ der Proteine bewirken könne.

Wir beobachten gelegentlich in der Immunoelktrophorese länger gelagerter Blutproben und nicht sonderlich alter Leichenblute ein unterschiedlich starkes, zum Teil unscharf begrenztes und ungewöhnlich breites Präcipitat, das sich kontinuierlich vom Startpunkt bis in den Albuminbereich als undifferenzierbare, flache und verschieden breite Linie erstreckt; es erschwert oder verhindert die Differenzierung der Präcipitate im  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulinbereich, vornehmlich der Gc-Typen, und entspricht offenbar dem von LEITHOFF beschriebenen atypischen und kräftigen Präcipitat im  $\alpha$ -Globulinbereich.

Auf die papierelektrophoretisch erfaßbaren Veränderungen des postmortalen Eiweißbildes, die im wesentlichen als hämolyseabhängige Albuminverminderung und Globulinvermehrung verstanden wurden, wiesen BENEKE und SCHLEYER hin.

Nach den Erfahrungen von SCHMIDT, LORKE und FORSTER; SCHMIDT, FORSTER und SCHULZ; SCHULTZE und SCHWICK; WAGNER; SCHWED; WEINIG, SCHWED und LAUTENBACH ist damit zu rechnen, daß die Proteolyse sowohl durch körpereigene als auch durch bakterielle Fermente unter aeroben und anaeroben Verhältnissen beeinflußt wird.

Störungen der stärkegelektrophoretischen Haptoglobin-Typen-Differenzierung in alten hämolytischen Bluten und Blutflecken (JÖRGENSEN und GALLASCH, HEIFER) sind bekannt und lassen ähnliche Schwierigkeiten der Gc-Diagnostik in gelagerten Bluten, Leichenbluten und Blutspuren erwarten. Es ist also zu prüfen, ob und wie lange die Gc-Typen

in den genannten Substraten mit ausreichender Sicherheit nachweisbar sind und mit welchen proteolytischen Einflüssen zu rechnen ist.

### Material und Methode

Es wurden 108 2 Jahre alte Blutalkoholproben untersucht, die in verschlossenen Venülen ohne baktericide oder konservierende Zusätze bei  $+4^{\circ}\text{C}$  gelagert waren; 124, zum Teil stark hämolytische Leichenblute aus dem Obduktionsmaterial der Jahre 1964 und 1965, die wenige Stunden bis 4 Tage nach dem Tode asserviert und nach tage- bis monatelanger Lagerung bei  $+4^{\circ}\text{C}$  untersucht wurden. Insgesamt wurden 108 Untersuchungen an Leinenblutflecken, 75 Untersuchungen an Leinenserumflecken, 57 Untersuchungen an Vollblutspuren auf Glas und 45 Untersuchungen an Serumspuren auf Glas vorgenommen. Die Flecken waren jeweils aus bekannten Vollbluten und Seren angelegt, bei Zimmertemperatur aufbewahrt und nach Lagerungszeiten von 3 Std bis 3 Monaten untersucht worden.

Die Immunoelektrophorese entsprach den von HIRSCHFELD für die Ge-Bestimmung angegebenen Vorschriften und wurde mit der LKB-Ausrüstung durchgeführt.

Blutproben und Leichenblute wurden vor der IE zentrifugiert. Leinenspuren wurden entweder mit destilliertem Wasser (bzw. physiologischer Kochsalzlösung) eluiert und im Exsiccator bei Zimmertemperatur auf eine möglichst optimale Konzentration eingengt oder aber als Substratschüppchen bzw. in Form von kleinen, ausgeschnittenen Stoffstückchen, mit dem Brückenpuffer benetzt, direkt der IE unterworfen.

Zur Überprüfung proteolytischer Serumveränderungen in gelagerten und Leichenbluten bedienten wir uns des i.e. Nachweises einzelner Proteinfractionen. Es wurden außer dem Anti-Ge-Serum des Institut Pasteur folgende Antiseren der Behringwerke vom Kaninchen verwendet:

1. Anti-Präalbuminseren.
2. Anti-Albuminseren.
3. Anti- $\alpha_1$ -Lipoproteinserum.
4. Anti- $\alpha_2$ -Makroglobulinserum.
5. Anti-Transferrinseren.
6. Anti- $\beta$ -Lipoproteinserum.
7. Anti-Fibrinogenserum.
8. Anti-7-S- $\gamma$ -Globulinserum.
9. Anti- $\gamma_1$ -A-Globulinserum.
10. Anti- $\gamma_1$ -Makroglobulinserum (Kaninchen und Pferd).

### Ergebnisse

*Gelagerte Blutproben.* 84 Blute (dunkelrot-lackfarben, hämolytisch) ließen schon im ersten i.e. Untersuchungsgang ihren Ge-Typ eindeutig

erkennen (Abb. 2a). 20 Blute konnten erst nach Wiederholungsuntersuchungen genügend sicher differenziert werden, während 4 Blute unbestimmbar blieben. Es lag folgende Typenverteilung vor:

Gc-Typ	Anzahl	%
1—1	60	57,7
2—1	32	30,8
2—2	12	11,5
Summe	104	100,0

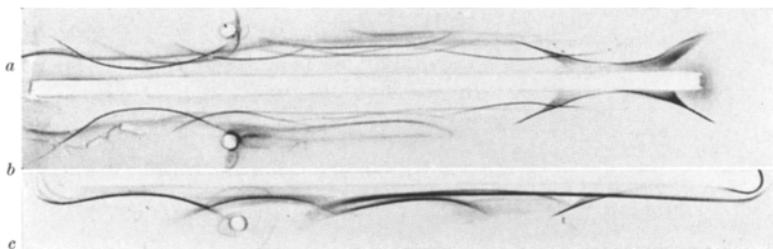


Abb. 2. 2 Jahre gelagerte Blutproben: a Gc 2—1; b Gc 1—1 mit feinem kontinuierlichen Präzipitat zwischen Start und Albumin; c unbestimmbares Präzipitat mit Verlust feiner Präzipitate und kräftigem, kontinuierlichen Präzipitat zwischen Start und Albumin

In 47 Bluten (45,2% der bestimmbaren 104) fiel ein undifferenzierbares, atypisches, vom Startpunkt bis in den Albuminbereich ausgedehntes, unterschiedlich kräftiges Präcipitat auf, das in der überwiegenden Zahl der Fälle noch ziemlich scharf gezeichnet war (Abb. 2 b). In den vier unbestimmbaren Bluten war es so kräftig, breit und diffus, daß das Gc-Präcipitat im  $\alpha_2$ -Globulinbereich neben anderen Banden der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulinfraktionen nicht mehr erkannt werden konnte (Abb. 2 c). Die nach ihrem Gc-Typ bestimmbaren Blute zeigten klare, teilweise jedoch wesentlich abgeschwächte, gelegentlich auffallend flache Präcipitate, die im  $\alpha_2$ -Bereich lokalisiert und gegenüber den anderen Proteingruppen und ihren Fraktionen sicher abgrenzbar waren.

*Leichenblute.* Von 124 Leichenbluten konnten 66 (53,2%) diagnostiziert werden (Abb. 3 a). Die Gc-Typen waren in bezug auf die Gesamtzahl der untersuchten Blute wie nachstehend verteilt:

Gc-Typ	Anzahl	%
1—1	39	31,5
2—1	20	16,1
2—2	7	5,6
unbestimmbar	58	46,8
Summe	124	100,0

Die 66 bestimmbaren Leichenblute zeigten folgende Gc-Typenverteilung:

Gc-Typ	%
1—1	59,0
2—1	30,3
2—2	10,7
Summe	100,0

Wie bei den gelagerten Bluten waren die Typen 1—1 und 2—2 häufiger, der Typ 2—1 weniger häufig bestimmt worden, als es aus ihrer

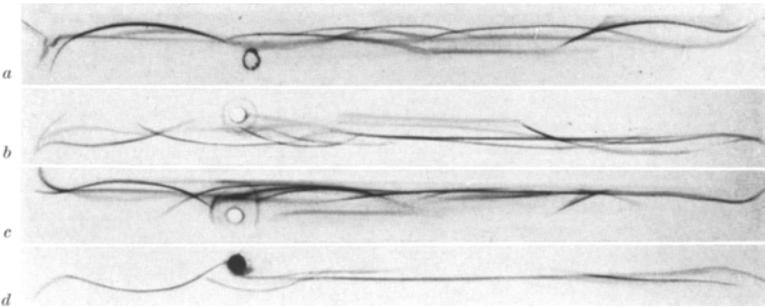


Abb. 3. Leichenblute: *a* Gc 1—1. *b* Gc 2—2 mit kontinuierlichem Präcipitat zwischen Start und Albumin. *c* Unbestimmbare proteolytische Defekte (stärkeres Präcipitat zwischen Start und Albumin). *d* Unbestimmbar (Verlust der Präcipitationsstärke, aller feinen Bögen; kontinuierliches Präcipitat zwischen Start und Albumin)

Normalverteilung im hiesigen Einzugsgebiet zu erwarten gewesen wäre (Gc 1—1 = 51,96%, Gc 2—1 = 40,04%, Gc 2—2 = 8,00% bei  $n = 2248$ ).

10 von 66 diagnostizierten Leichenbluten (15,2%) konnten trotz deutlicher proteolytischer Serumveränderungen (Abschwächung und Abflachung der Präcipitate, Auftreten eines relativ feinen, undifferenzierbaren Präcipitates zwischen Start und Albuminbereich) bestimmt werden (Abb. 3 *b*). 34 von 58 unbestimmbaren Leichenbluten (58,6%) zeigten schwerste proteolytische Defekte der Proteinfractionen, der elektrophoretischen Beweglichkeit, der Präcipitationsschärfe neben einem regelmäßig aufgetretenen, unscharfen, breiten und undifferenzierten Präcipitationsband zwischen Start und Albuminbereich (Abb. 3 *c*). 24 der unbestimmbaren Blute (41,4%) konnten wegen zu schwacher oder fehlender Präcipitate nicht mehr differenziert werden (Abb. 3 *d*).

Nachweisbarkeit, Präcipitationsstärke und proteolytische Veränderungen einzelner Proteinfractionen in der IE seien am Beispiel einiger Leichenblute und eines frischen Kontrollserums demonstriert (Tabelle 1, Abb. 4 und 5).

*Blut- und Serumspuren.* Da erfahrungsgemäß mit einer Blut- oder Serumelution aus aufsaugenden Spurenlägern nicht unerhebliche Sub-

stratverluste verbunden sind, die nur bei dem Vorliegen ausreichend großer Spuren durch nachträgliche Einengung des Spureneluates wieder ausgeglichen werden können, wurde geprüft, welchem Verdünnungseffekt das Spurensupstrat ohne Einbuße der Gc-Nachweisbarkeit ausgesetzt werden kann. Bis zu einem Titer von 1:8 bis 1:16 blieb sie in

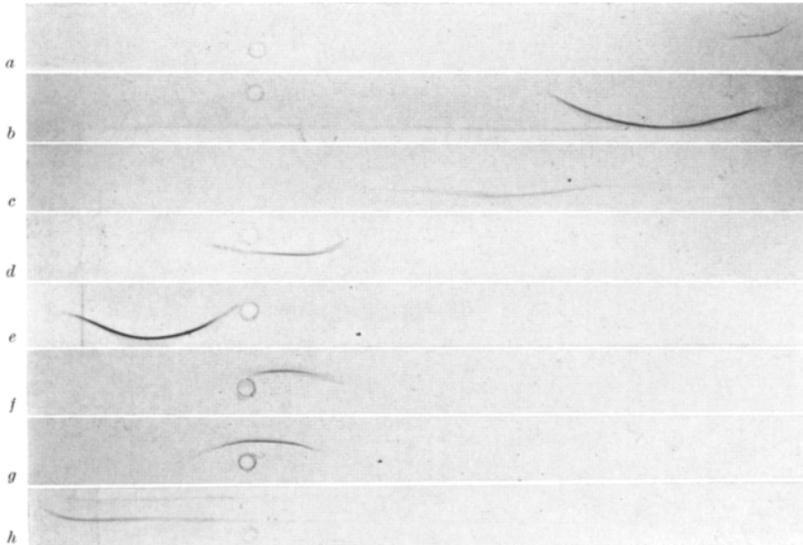


Abb. 4. Fraktionierte Immunelektrophorese einzelner Proteine eines frischen Serums: *a* Präalbumin; *b* Albumin; *c*  $\alpha_1$ -Lipoprotein; *d*  $\alpha_2$ -Makroglobulin; *e* Transferrin; *f*  $\beta$ -Lipoprotein; *g* Fibrinogen; *h* 7-S- $\gamma$ -Globulin

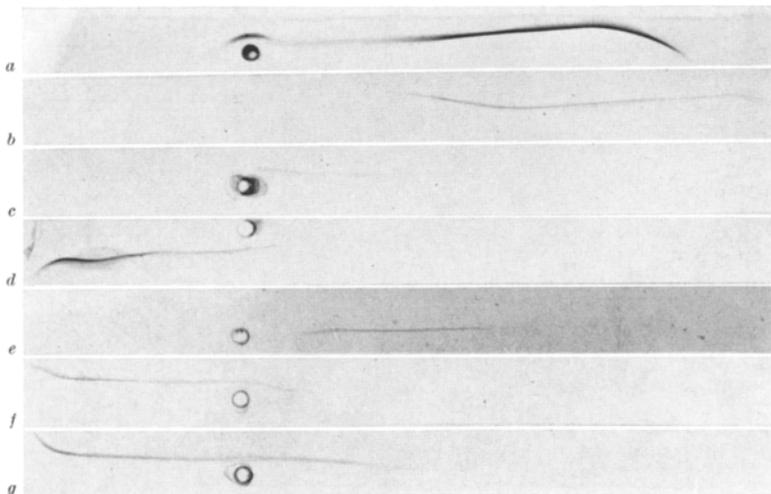


Abb. 5. Fraktionierte Immunelektrophorese einzelner Proteine von Leichenbluten: *a* Albumin; *b*  $\alpha_1$ -Lipoprotein; *c*  $\alpha_2$ -Makroglobulin; *d* Transferrin; *e*  $\beta$ -Lipoprotein; *f* Fibrinogen; *g* 7-S- $\gamma$ -Globulin

der Regel erhalten, wenn mit einem unverdünnten Anti-Gc-Serum des Institut Pasteur gearbeitet wurde (Abb. 6).

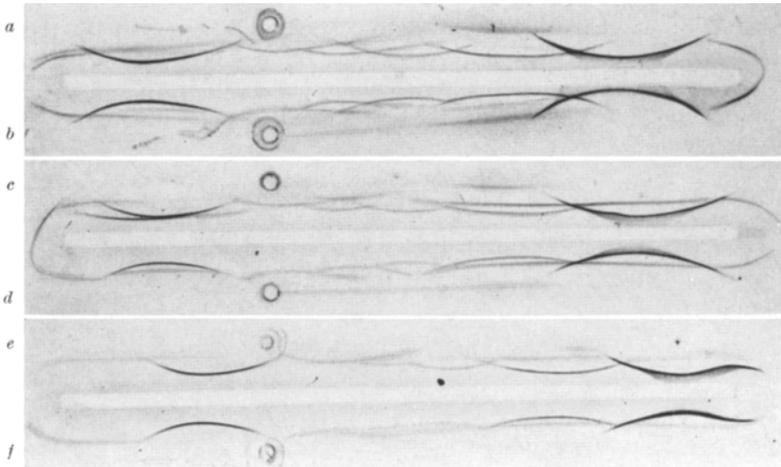


Abb. 6. Verdünnungsversuch am frischen Serum: a 1:1; b 1:2; c 1:4; d 1:8; e 1:16; f 1:32

Tabelle I. Nachweisbarkeit, Präcipitationsstärke und immuno-electrophoretische Veränderungen einiger Proteinfraktionen in Leichenbluten

Antiserum	Untersuchte Blute									Kontrollserum
	Leichenblute									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Präalbumin	++	-	-	-	-	-	+	-	-	++
Albumin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++ →	+++	+++ →	+++
$\alpha_1$ -Lipoprotein	+	-	-	-	+	(+)	++	-	-	+++
	←				→		↔			
$\alpha_2$ -Makroglobulin	++	++	++	+	+	+	++	++	+	+++
Transferrin	++	++	++	++	++	++	++	++ ←*	++	+++
$\beta$ -Lipoprotein	+	-	-	-	(+) *	(+) *	+	-	-	+
				0				0	0	
Fibrinogen	(+)	-	(+)	-	(+)	-	(+)	-	-	+
		0	0	0	→*	0	→*	0	0	
$\gamma_1$ -S- $\gamma$ -Globulin	(+)	(+)	(+)	+	-	(+)	-	+	(+)	++
	←	←	←	←		←	←*	←*	0	
$\gamma_1$ -A-Globulin	++	++	++	(+)	+	(+)	+	+	(+)	++

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Antiserum	Untersuchte Blute									
	Leichenblute									Kontrollserum
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
$\gamma_1$ -Makroglobulin (Kaninchen)	+	++	++	++	+	+++	++	++	++	+++
$\gamma_1$ -Makroglobulin (Pferd)	+	+	++	++	++	+++	++	++	+++	+++
Gc	1—1	1—1	—	—	2—2	—	—	—	—	1—1
Zeit der Blutentnahme nach dem Tode in Tagen	1	1	2	4	2	4	4	3	3	
Zeit der Untersuchung nach der Blutentnahme in Tagen	2	75	90	91	80	80	80	60	61	1

+ positiv, ++ stark positiv, +++ sehr stark positiv, (+) schwach positiv, — negativ, \*unscharf, 0diffuse Präcipitation um den Startpunkt, ← Ausziehung des Präcipitates anodenwärts, → Ausziehung des Präcipitates kathodenwärts. ↔ Ausziehung des Präcipitates anoden- und kathodenwärts.

Bei der Spurendiagnostik wurden die nachstehend tabellarisch zusammengefaßten Ergebnisse erzielt:

Untersucht nach einer Zeit von	Blutspuren in Leinen			
	Anzahl		Ergebnisse	
	eluiert und nicht eingengt	eluiert und eingengt	positiv	negativ
3 Std	12	12	1	23
6 Std	12	12	1(?)	23
12 Std	12	12		24
24 Std		18		18
48 Std		18		18

## Serumspuren in Leinen

Untersucht nach einer Zeit von	Anzahl eluiert und eingeengt	Ergebnisse	
		positiv	negativ
24 Std	18	11	7
48 Std	18	9	9
1 Woche	12	2	10
2 Wochen	12		12
4 Wochen	15		15

## Blutspuren auf Glas

Untersucht nach einer Zeit von	Anzahl eluiert und eingeengt	Ergebnisse	
		positiv	negativ
24 Std	20	13	7
48 Std	9	2	7
72 Std	12		12
4 Tage	12		12
1 Woche	4		4

## Serumspuren auf Glas

Untersucht nach einer Zeit von	Anzahl eluiert und eingeengt	Ergebnisse	
		positiv	negativ
24 Std	12	11	1
48 Std	6	6	
1 Woche	6	6	
2 Wochen	9	9	
4 Wochen	12	8	4
12 Wochen	6		6

Die Gc-Präcipitate ließen sich in Blutspuren wesentlich schlechter und nur über relativ kürzere Zeit nachweisen als in Serumspuren. Besonders ungünstig ist die Nachweismöglichkeit in aufsaugenden Spurenrägern, während sie in frischen Spuren auf Glas vergleichsweise viel besser gegeben ist. Geringe Spuren erwiesen sich bei aufsaugenden Trägersubstanzen wegen der notwendigen Elution für die Gc-Diagnostik als praktisch unbrauchbar.

Die prinzipielle Nachweisbarkeit der gruppenspezifischen Komponenten in Spuren wird durch die Ergebnisse der experimentellen Serumspurenuntersuchung belegt. Sie ist um so wahrscheinlicher, je früher eine möglichst große Spur untersucht werden kann.

Wie in den alten Bluten und in den Leichenbluten wurden auch in den Spuren Form- und Lokalisationsveränderungen der Proteinpräcipi-

tate beobachtet. Wir fanden die Feststellung von NERSTROM bestätigt, daß die Gc-Präcipitate aus gelagerten Spuren möglicherweise im  $\alpha_1$ -Globulinbereich lokalisiert sein können. Auch bei der Spurendiagnostik machten sich insbesondere mangelnde Trennstärke der Einzelpäcipitate und der Proteingruppen neben einer regelmäßigen Präcipitations-

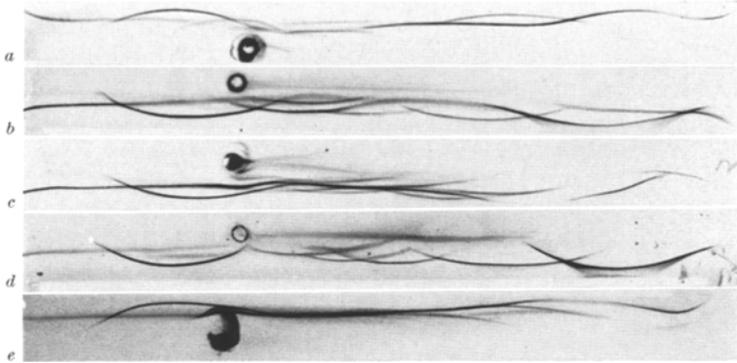


Abb. 7. Spurenbefunde. *a* Vollblut in Leinen, Gc 1—1. *b* Serum in Leinen, Gc 1—1. *c* Vollblut auf Glas, Gc 1—1. *d* Serum auf Glas, Gc 1—1. *e* Vollblut auf Glas, unbestimmbar

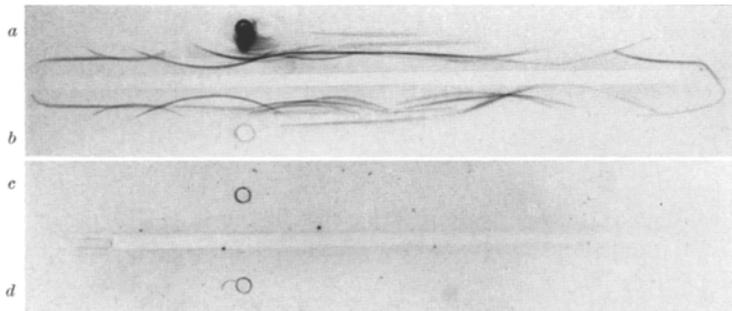


Abb. 8. Vergleichsuntersuchung an frischem Vollblut (*a* Gc 2—2), frischem Serum (*b* Gc 2—2), einer serumfreien nicht hämolytischen (*c*) und einer serumfreien hämolytischen Erythrocytenaufschwemmung (*d*)

schwäche störend bemerkbar. Der Radius der Gc-Bögen war in der Regel vergrößert. Die Bögen selbst erschienen wesentlich flacher als bei der Untersuchung von Nativseren und nicht selten sowohl kathodenwärts als auch anodenwärts nur verschwommen erkennbar und unscharf dargestellt.

Je älter eine Spur war, um so schwächer waren die Gc-Bögen und um so häufiger und stärker beeinträchtigten undifferenzierte, durchgehende und breite, teils äußerst unscharfe und diffuse Präcipitate zwischen Start und Albuminbereich die Gc-Bestimmung (Abb. 7 *e*). Diese atypischen, bandartige ausgestreckten Präcipitate traten auch

stets bei mehrfachen Nachuntersuchungen der Spuren auf und verhinderten durch eine weitgehende Verschleierung des  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulinbereiches die Erkennung der Gc-Präcipitate. Sie wurden in Spuren aufsaugender Trägersubstanzen früher und stärker beobachtet als in solchen Spuren, die auf Glas aufgetragen waren. Sie störten auch früher und stärker in Vollblut- als in reinen Serumspuren, früher in hämolytischen Vollbluten und Leichenbluten als in gelagerten Bluten (bzw. Seren).

Vergleichsuntersuchungen an frischen Vollbluten und Seren, an serumfreien hämolytischen und nicht hämolytischen Erythrocytenaufschwemmungen zeigen, daß die Entstehung atypischer kontinuierlicher Präcipitate zwischen Start und Albumin wohl kaum wesentlich durch die Hämolyse, sondern vorwiegend durch die Serumproteolyse verursacht wird (Abb. 8), wie es auch aus den Ergebnissen der fraktionierten i.e. Proteindarstellung alter Blute und Seren zu folgern ist (Abb. 5).

### Besprechung der Ergebnisse

Die immunoelektrophoretische Untersuchung gelagerter Blutproben, von Leichenbluten, Blut- und Serumspuren hat die Nachweisbarkeit der Gc-Präcipitate grundsätzlich erwiesen (Abb. 2, 3 und 7). Sie ist jedoch in allen untersuchten Substraten von günstigen Voraussetzungen abhängig, die nicht allein und nur in einem relativ geringen Maße von der Untersuchungstechnik beeinflußt werden. Nach unseren Erfahrungen mit dem Haptoglobintypen-Nachweis in Blutspuren erwarteten wir, daß die schwierige elektrophoretische Darstellbarkeit der genetisch gesteuerten Eiweißgruppen in Blutspuren wenigstens zum Teil doch auf eine noch nicht optimale Elutionstechnik zurückzuführen sei. Diese Annahme hat nach der Anwendung verschiedener Variationen der Substratgewinnung nur eine begrenzte Gültigkeit behalten; sie rechtfertigt nicht den Gedanken, eine verbesserte Materialaufschließung führe zu einer uneingeschränkt möglichen und sicheren Spurendiagnostik

In Übereinstimmung mit den eingangs skizzierten Vorstellungen über die postmortale und extravasale Serumproteolyse zeigte sich, daß die i.e. Nachweisbarkeit der Gc-Typen weitgehend vom Autolyse- und Fäulnisgrad des zu untersuchenden Substrates bestimmt wird.

Papieroelektrophoretisch stellen sich die proteolytischen Veränderungen im Leichenserum als Verminderung der Albumine und als Vermehrung der höhermolekularen Globuline dar (BENEKE, SCHLEYER, SCHLEYER-SELLIER). BENEKE nimmt an, die Albuminverminderung sei auf ein „postmortales Abwandern der feindispersen Albumine aus der Gefäßbahn“ zurückzuführen. SCHLEYER erklärt sie durch eine absolute Vermehrung der Globuline als Folge einer intravasalen Hämolyse der Leiche.

LEITHOFF wies schon auf die papierelektrophoretisch nur unzureichend mögliche Trennung der Serumproteine hämolytischer und fauler Leichenblute und auf die i.e. darstellbaren Proteindefekte in Leichenbluten hin. Wir fanden in gelagerten Bluten, in Leichenbluten und Blutspuren eine Proteinvermehrung im  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globulinbereich (zwischen Start und Albumin in der IE (Abb. 2, 3 und 7) bestätigt. Es war zu vermuten (SCHLEYER, BENEKE), daß sie mit der Hämolyse in Zusammenhang stehe. Sie ist jedoch nicht durch eine hämolyseabhängige Hämoglobinanreicherung des Leichenserums bewirkt (Abb. 8), sondern möglicherweise durch eine Freisetzung intraerythrocytärer nicht präcipitabler Proteine erklärbar, die die Immunoelktrophorese nicht stören.

Gezielte i.e. Untersuchungen einzelner Eiweißfraktionen (Abb. 4 und 5) lassen keinen Zweifel daran, daß die Hämolyse nur eine Teilursache für eine solche relative Globulinvermehrung sein kann, und zeigen vielmehr, daß die Proteine durch die Proteolyse (beispielsweise des Leichenblutes) in ihrem elektrophoretischen Verhalten und in ihrer Präcipitationsfähigkeit schwer geschädigt werden. Vorzüglich am Beispiel des Albumins (Abb. 4 b und 5 a) wird verständlich, daß die Proteolyse zu einer Veränderung der elektrophoretischen Beweglichkeit der Eiweiße führt, die durch die kontinuierliche Lokalisation des Albumins vom Start bis zur Albuminfraktion der IE eine Globulinvermehrung und eine Albuminverminderung vorzutauschen geeignet ist. Ähnliche Veränderungen können in allen Proteingruppen beobachtet werden und zum Verlust subtiler Präcipitate oder zu deren Verschleierung führen.

Die i.e. Untersuchungen an gelagerten Bluten, Leichenbluten und Blutspuren zeigen, daß die feinen Gc-Bögen im  $\alpha_2$ -Globulinbereich, abhängig von Stärke und Zeitdauer der Serumproteolyse und der Hämolyse, einerseits durchaus nachweisbar bleiben, andererseits aber zunehmend abgeschwächt, von atypisch lokalisierten Proteingruppen und ihren Defektformen überlagert und schließlich auch selbst in ihrem elektrophoretischen Verhalten und in ihrer Präcipitationsfähigkeit beeinträchtigt werden können.

Übereinstimmend mit LEITHOFF fanden wir eine relativ gute quantitative Stabilität des Albumins gegenüber der Proteolyse; auch  $\gamma$ -Globulin,  $\alpha_2$ -M-Globulin, Transferrin und Fibrinogen erwiesen sich als ziemlich resistent. Dagegen waren die quantitativ geringeren, niedermolekularen und in sehr feinen i.e. Präcipitaten sich abzeichnenden Proteingruppen (unter ihnen Gc und Hp) relativ frühzeitiger und schwerer geschädigt. Unabhängig von der quantitativen Stabilität treten gelegentlich schon recht früh erfaßbare Defekte in der elektrophoretischen Beweglichkeit, in der Präcipitationsform, -dichte und -schärfe und auch im Diffusionsvermögen der Proteine auf. Sie können schon vor dem Verlust der Nachweisbarkeit von Gc-Präcipitaten bei noch

erhaltener immunologischer Spezifität der Eiweiße störende Abwandlungen des gewohnten Bildes der Immunoelktrophorese verursachen. Das berührt selbstverständlich nicht nur die Gc-Diagnostik in Leichenbluten und Blutspuren, sondern auch die Routine- oder Kontrolluntersuchungen von Bluten oder Seren, die dem proteolytischen Einfluß körpereigener oder bakterieller Fermente über eine geraume Zeitdauer ausgesetzt waren. Ist also der Gc-Typen-Nachweis in länger gelagerten Bluten, Leichenbluten und Spuren möglich, so werden stets die gewonnenen Präcipitate mit größter Zurückhaltung und nur nach dem Ausschluß störender Proteolysedefekte unter Mitführung von Vergleichsseren und Kontrollversuchen am fraglichen Substrat bewertet werden dürfen.

### Zusammenfassung

Von 108 2 Jahre alten Blutalkoholproben war in 104 Fällen der Gc-Typ bestimmbar. 66 von 124 Leichenbluten (53,2%) waren ebenfalls diagnostizierbar. In beiden Untersuchungsgruppen zeigte sich eine Verminderung von Gc 2—1 gegenüber dem aus der Normalverteilung zu erwartenden Anteil. Es wird auf gelegentlich schon frühzeitig, nach längerer Lagerung regelmäßig auftretende proteolytische Defekte der elektrophoretischen Beweglichkeit, der Präcipitationsform und des Diffusionsvermögens der Serumproteine hingewiesen, die die Gc-Diagnostik stören können. Die Gc-Typen-Bestimmung in Blut- und Serumspuren hat sich als sehr schwierig erwiesen und ist nur in frischem und reichlichem Spurenmaterial mit der erforderlichen Sicherheit möglich und darf nur unter Berücksichtigung proteolytischer Serumeiweißdefekte bei gleichzeitiger Mitführung von Vergleichsseren und Kontrollversuchen mit äußerster Zurückhaltung verwertet werden.

### Summary

108 samples of blood have been stored for two years and after this time have been investigated relativ to their Gc-type. 104 samples could be determined. 66 from 124 (53.2%) of cadaverous sera have also been determined. In both the groups of investigation a diminution of Gc 2—1 was observed in relation to the expected rate. Proteolytic defects of serum-proteins, concerning to the electrophoretic mobility, to the shape of precipitation and to the diffusibility of serumproteins, were observed occasionally early, but regulary after a longer storage. The Gc-analysis in blood or serum stains is very difficult. It is practicable in fresh and abundant stains and should be utilized only with extreme reserve and in regard to the proteolytic defects and by application of controlling sera and investigations.

## Literatur

- BENEKE, G.: Über die Ursachen der postmortalen Veränderungen des Serumpherogrammes. *Z. ges. inn. Med.* **15**, 323 (1960).
- DUCOS, J., J. RUFFIE et M. VARSI: Mise en evidence des antigenes Gm (a), Gm (b), Gm (x) dans les taches de sang sec. *Vox Sang.* (Basel) **7**, 722 (1962).
- DÜRWARD, W.: Haptoglobinnachweis in Blutflecken. Vortrag V. Kongr. für gerichtl. und soziale Medizin, Wien 1961.
- GRUBB, R.: Agglutination of erythrocytes coated with "incomplete" anti-Rh by certain rheumatoid arthritic sera and some other sera. The existence of human serum groups. *Acta path. microbiol. scand.* **39**, 195 (1956).
- , and A. B. LAURELL: Hereditary serological human serum groups. *Acta path. microbiol. scand.* **39**, 390 (1956).
- HALLERMANN, W., u. K. H. STÜRNER: Untersuchungen über die Möglichkeit des Nachweises der Haptoglobintypen in experimentell bereiteten Blutspuren auf Stoffstücken. Vortrag 41. Tagg der Dtsch. Ges. für gerichtl. und soziale Medizin, Münster 1962.
- HARBOE, M.: A new hemagglutinating substance in the Gm system, anti Gm<sup>b</sup>. *Acta path. microbiol. scand.* **47**, 191 (1959).
- , and J. LUNDEVALL: A new type in the Gm system. *Acta path. microbiol. scand.* **45**, 375 (1959).
- — The application of the Gm system in paternity cases. *Vox Sang.* (Basel) **6**, 257 (1961).
- HEIFER, U.: Untersuchungen über das Haptoglobin und Methaemalbumin in Blut, Blutspuren und Sperma mittels Stärkegel-Elektrophorese. *Blut* **10**, 113 (1964), dort weitere einschlägige Literaturangaben.
- Untersuchungen über die gruppenspezifischen Komponenten (Gc) von HIRSCHFELD. *Münch. med. Wschr.* **106**, 108 (1964), dort weitere einschlägige Literaturangaben.
- Zur Technik des Gc-Nachweises. Vortrag 43. Kongr. für gerichtl. und soziale Medizin, Zürich 1964 (Kongreßband im Druck).
- , u. P. HAUPT: Zur Nachweismöglichkeit des Faktors Gm (a) in Blutspuren. *Arch. Kriminologie* **135**, 43 (1965), dort weitere einschlägige Literaturangaben.
- HIRSCHFELD, J.: Immuno-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobin. *Acta path. microbiol. scand.* **47**, 160 (1959).
- Immuno-electrophoresis-procedure and application to the study of groupspecific variations in sera. *Science Tools* **2**, 18 (1960).
- JÖRGENSEN, G., and E. GALLASCH: Instability of heterozygous haptoglobin type 2—1 in starch-gel electrophoresis. *Lancet* **1962**, 1301.
- LEITHOFF, H., u. J. LEITHOFF: Immuno-elektrophoretische Differenzierung der Proteine faulen Leichenblutes. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **54**, 286 (1963).
- NERSTROM, B., and J. S. JENSEN: Immuno-electrophoretic analysis of blood stains with special reference to Gc-grouping. *Acta path. microbiol. scand.* **58**, 257 (1963).
- PROKOP, O., u. G. BUNDSCHUH: Die Technik und die Bedeutung der Haptoglobine und Gm-Gruppen in Klinik und Gerichtsmedizin. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1963.
- SCHLEYER, F.: Papierelektrophoretische Untersuchungen des Eiweißbildes von Leichenseren. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **221**, 306 (1954).

- SCHLEYER, F.: Postmortale klinisch-chemische Diagnostik und Todeszeitbestimmung mit chemischen und physikalischen Methoden. Stuttgart: Georg Thieme 1958.
- , u. K. SELLIER: Untersuchungen über den Serumphämoglobingehalt in verschiedenen Venengebieten der Leiche. Z. ges. inn. Med. **13**, 805 (1958).
- SCHMIDT, O., B. FORSTER u. G. SCHULZ: Untersuchungen über die Anteile der Eigen- und Fremdfermente am postmortalen Eiweißzerfall. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **52**, 28 (1961).
- D. LORKE u. B. FORSTER: Studie über postmortale Abbauvorgänge. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **49**, 206 (1959).
- SCHULTZE, H. E., u. G. SCHWICK: Immunochemischer Nachweis von Proteinveränderungen unter besonderer Berücksichtigung fermentativer Einwirkungen auf Glyko- und Lipoproteine, immunoelektrophoretische Studie. Behringwerk-Mitt. **8**, 11 (1958).
- SCHWERD, W.: Der rote Blutfarbstoff und seine wichtigsten Derivate. In: Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik, Bd. 1. Lübeck: Römhild 1962.
- VOGEL, G.: Untersuchung von Blutspurenmaterial. Vortrag 4. Tagg Kriminaltechnik, München 1961.
- WAGNER, H. J.: Die Beeinflussung postmortaler physikalisch-chemischer Vorgänge durch Antibiotika und Sulfonamide. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **51**, 572 (1961).
- WEINIG, E., W. SCHWERD u. L. LAUTENBACH: Die Neubildung von Äthanol, Methanol und anderen Alkoholen im Leichenblut und ihre forensische Bedeutung. Beitr. gericht. Med. **21**, 114 (1961).

Dr. med. ULRICH HEIFER  
Institut für Gerichtl. Medizin der Universität  
53 Bonn, Stiftsplatz 12