

Originalarbeiten — Original Papers

Nachweis der PGM₁-Phänotypen in Spermaspuren*

G. RADAM und H. STRAUCH**

Institut für Gerichtliche Medizin der Humboldt-Universität Berlin (DDR)

Eingegangen am 14. April 1971

Determination of PGM₁ Phenotypes in Seminal Stains

Summary. The determination of phosphoglucomutase isoenzymes in human seminal stains was carried out by starch gel electrophoresis. Differentiation of dried seminal stains was still possible after 3 months. Fluid from the seminal vesicles and mucus from the cervix uteri showed at post mortem examination a high PGM activity. Typing of these fluids for PGM₁ is possible. The phosphoglucomutase in seminal stains seems to originate mainly from the seminal vesicles.

Zusammenfassung. Spermaspuren wurden mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese auf ihren Gehalt an Phosphoglucomutase untersucht. Die PGM₁-Phänotypen konnten in angetrocknetem Sperma noch nach einer Lagerungszeit von 3 Monaten eindeutig bestimmt werden. Bläschendrüsensekret und Cervicalsehm von Leichen zeigen eine hohe PGM-Aktivität und eignen sich als Untersuchungsmaterial zur PGM₁-Typisierung. Die Phosphoglucomutase in den Spermaspuren stammt offenbar zum größten Teil aus dem Drüsensekret.

Key words: Spermaspuren, PGM₁-Phänotypen — Bläschendrüsensekret, PGM₁-Phänotypen — Cervicalsehm, PGM₁-Phänotypen — PGM₁-Phänotypen in Sperma, Cervicalsehm, Bläschendrüsensekret.

Nach Spencer et al. (1964) lassen sich die Phänotypen der Phosphoglucomutase des Menschen nicht nur an Erythrocyten, sondern auch an Leukocyten und wäßrigen Extrakten aus Haut, Leber, Niere, Gehirn, Placenta, Herz- und Uterusmuskulatur sowie an Gewebekulturen einwandfrei bestimmen. Renninger (1969) sowie Renninger u. Sina (1970) konnten nachweisen, daß sich als Untersuchungsmaterial auch Thrombocyten und isolierte Spermien eignen. Es gelang Culliford (1967), die PGM₁-Typen mit Hilfe der von ihm entwickelten Dünnschicht-Stärkegelelektrophorese in Blutspuren zu identifizieren. Oepen (1970) hat dieses Verfahren modifiziert und ebenso wie Brinkmann (1969) die praktische Brauchbarkeit bestätigt. Für uns ergab sich die Frage, inwieweit sich die Beobachtungen von Renninger u. Sina bei ihren Untersuchungen an Spermien auf die forensische Spurenkunde anwenden lassen.

Material und Methoden

Wir tränkten Filtrierpapierstreifen Filtrak FN 4 (vergleichbar Schleicher u. Schüll 2043b) und Schleicher u. Schüll 2208 mit frischen Spermaproben und ließen das Material antrocknen. Auf die gleiche Weise behandelten wir von Leichen gewonnenes Sekret aus den

* Unserem verehrten Chef und Lehrer, Herrn Prof. Dr. O. Prokop, zum 50. Geburtstag.

** Fräulein M. Litta danken wir für die tatkräftige Unterstützung bei der Ausführung der technischen Arbeiten.

Bläschendrüsen, ferner Vaginal- und Cervicalseeim. Außerdem wurden Proben mit frischem, d.h. nicht getrocknetem Sekret aus Bläschendrüsen getestet.

Für die elektrophoretische Auftrennung im Stärkegel bedienten wir uns einer schon früher beschriebenen Technik (Radam u. Strauch, 1969), arbeiteten aber statt mit 140 V bei einer Klemmenspannung von 290 V und einer Stromstärke von 35 mA und erreichten auf diese Weise schon nach 5 Std gute Auftrennungen. Filtrierpapier mit angetrocknetem Material wurde vor dem Beschicken mit wenig 0,14 m Kochsalzlösung angefeuchtet.

Ergebnisse und Diskussion

Abb. 1 und 2 zeigen die PGM₁-Isoenzymmuster aus angetrocknetem Sperma von 3 Probanden (A, B, C), die wir auf Zeugungsfähigkeit zu begutachten hatten. Bei A bestand mit 25740 Spermien pro mm³ Sperma eine Hypospermie, bei B und C stellten wir eine Oligospermie fest (1160 bzw. 1480 Spermien pro mm³). Auf Grund der PGM₁-Auftrennung konnte bei A der Phänotyp 2-1, bei B der Phänotyp 1 und bei C der Typ 2 festgestellt werden. Von dem bei Zimmertemperatur unter Lichteinwirkung gelagerten getrockneten Sperma wurden im Verlauf von 3 Monaten mehrere Proben entnommen und kontrolliert. Die Farbintensität der Enzymbanden nahm mit zunehmender Lagerung stetig ab, jedoch ohne daß sich qualitative Veränderungen ergaben. Die 3 Phänotypen waren bei Verwendung des dünnen Filtrierpapiers bis zu 4 Wochen ablesbar, während die Bestimmung mittels des dickeren Papiers noch nach 5 Monaten zweifelsfrei möglich war.

Die außerordentlich hohe Intensität der aus frischem Material erhaltenen Enzymzonen ließ uns im Hinblick auf die in 2 Fällen diagnostizierte Oligospermie an der Annahme zweifeln, daß die Enzymaktivität des Spermas allein auf den PGM-Gehalt der Spermien zurückzuführen sei. Wir prüften deshalb, ob auch andere Bestandteile des Spermas dieses Enzym enthalten. Zu diesem Zweck untersuchten wir Sekret aus den Bläschendrüsen von 13 Leichen, das in 8 Fällen auf Filtrierpapier FN 4 getrocknet und in den übrigen 5 Fällen sofort nach der Entnahme zur Untersuchung gelangte. Die zuvor durchgeführten mikroskopischen Kontrollen auf zellige Bestandteile ergaben lediglich einzelne abgeschilferte Epithelien, hingegen keine Spermien und keine Erythrocyten. Die elektrophoretische Auftrennung ergab, daß das Bläschendrüsensekret in hoher Konzentration Phosphoglucomutase enthält, deren Isoenzymverteilung eine einwandfreie Zuordnung zu den bekannten Phänotypen erlaubt (Abb. 3). In einigen Fällen stellte sich beim PGM₁ 1-Typ sowohl in Spermaspuren als auch im Drüsensekret in Höhe der *d*-Position eine sehr schwache zusätzliche Bande dar, die bei der Auftrennung von Hämolyisaten bisher nicht gesehen worden ist.

Unsere Beobachtungen veranlaßten uns, spermienfreien Vaginal- und Cervicalseeim auf PGM zu untersuchen. Es überraschte uns nicht, daß auch dieses Material nicht nur reichlich Phosphoglucomutase enthält, sondern darüber hinaus eine eindeutige PGM₁-Typisierung zuläßt.

An den PGM-Isoenzymmustern aus dem Sekret der Bläschendrüsen und aus dem Sekret der weiblichen Genitalien fiel gleichermaßen die starke Reduktion der Zonen *f* und *g* (PGM₂-Locus) auf. Diese Feststellung stimmt mit den Angaben von Renninger u. Sina (1970) über ihre Studien an isolierten Spermien überein. Im PGM₃-Bereich konnten wir auch bei stark verlängerter Inkubation (bis zu 24 Std) keine Enzymaktivität registrieren.

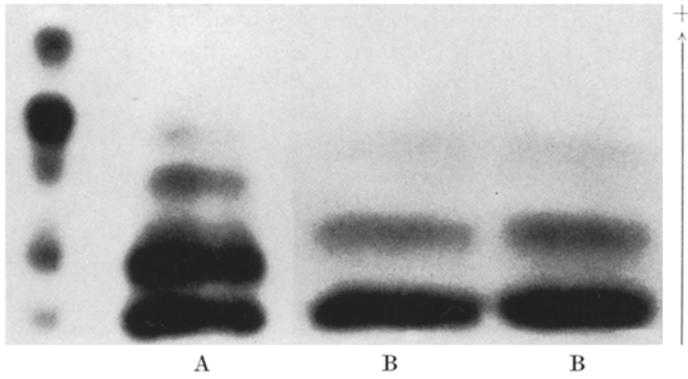


Abb. 1. PGM₁-Phänotypen aus angetrocknetem Sperma nach Stärkegelelektrophorese 5 Std bei 5 °C. A PGM₁ 2-1, B PGM₁ 1 (links PGM₁ 2-1 aus Hämolystat)

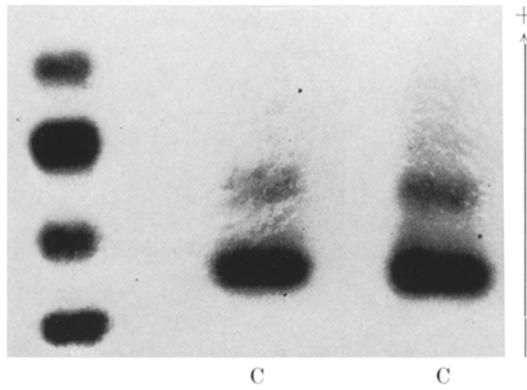


Abb. 2. PGM₁ 2-Phänotyp aus angetrocknetem Sperma des Probanden C (links PGM₁ 1 aus Hämolystat einer Kontrollperson)

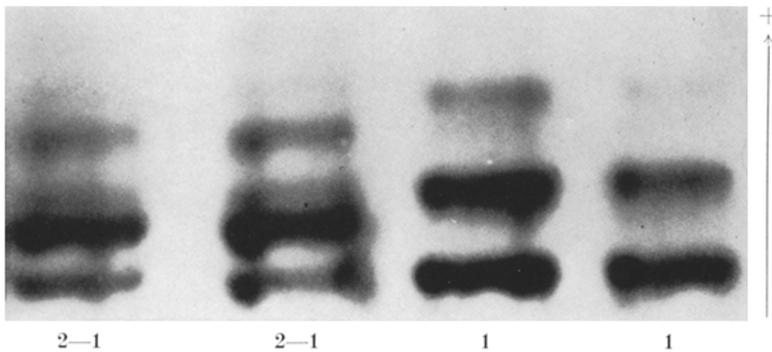


Abb. 3. PGM₁-Phänotypen, dargestellt an Sekret aus Bläschenrüben (Leichenmaterial)

Nach unseren Ergebnissen halten wir es für sicher, daß die Bestimmbarkeit der PGM₁-Phänotypen in Spermaspuren nicht in erster Linie auf einem PGM-Gehalt der Spermien, sondern mindestens überwiegend auf dem hohen Enzymanteil im Sekret der Bläschendrüsen beruht. Die von Renninger u. Sina geäußerte Annahme, Spermien enthalten „reichlich das Enzym der Phosphoglucomutase“, bedarf unseres Erachtens noch einer eingehenden Analyse, zumal die Spermien in den Nebenhoden mit einer Sekretschutzhülle gegen schädigende Einflüsse ausgestattet werden und dreimaliges Waschen der Zellen in Kochsalzlösung schon deshalb eine gründliche Reinigung ihrer Oberfläche nicht unbedingt gewährleisten muß.

Infolge der außerordentlich hohen Enzymaktivität in Spermaspuren ist auch noch nach Monaten sowohl durch direktes Verimpfen einer mit Kochsalzlösung angefeuchteten Probe des zumeist aus Textilgewebe bestehenden Spurenträgers als auch durch Elution und Übertragung auf Filtrierpapier (s. auch Brinkmann, 1969; sowie Oepen, 1970) eine Aussage über den PGM₁-Phänotyp möglich. Damit steht neben dem AB0-Blutgruppensystem, dessen Anwendbarkeit zudem an die Sekretoreigenschaften gebunden ist, ein weiterer genetisch gesteuerter Polymorphismus zur Typisierung von Spermaspuren zur Verfügung. Zur PGM₁-Phänotypenbestimmung an Leichen eignen sich außer Gewebeextrakten und Blut Bläschendrüsensekret und Cervicalsehim.

Literatur

- Brinkmann, B.: Bestimmung der Phosphoglucomutase-Typen aus Blutspuren. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **66**, 31—34 (1969).
- Culliford, B.J.: The determination of phosphoglucomutase (PGM) types in bloodstains. J. forens. Sci. **7**, 131—133 (1967).
- Oepen, I.: Dünnschicht-Stärkegel-Elektrophorese zur Bestimmung der Phosphoglucomutase-Typen an Blutspuren. Z. Rechtsmedizin **67**, 309—312 (1970).
- Radam, G., Strauch, H.: Die Darstellung der Phosphoglucomutase-Varianten (EC 2.7.5.1). Ärztl. Lab. **15**, 7—12 (1969).
- Renninger, W.: Isoenzymmuster der Phosphoglucomutase der menschlichen Thrombocyten (Thr.-PGM₁). Hum. Genet. **8**, 255—257 (1969).
- Sina, D.: Isoenzymmuster der Phosphoglucomutase der menschlichen Spermien (Sp.-PGM₁). Hum. Genet. **10**, 85—87 (1970).
- Spencer, N., Hopkinson, D.A., Harris, H.: Phosphoglucomutase polymorphism in man. Nature (Lond.) **204**, 742—745 (1964).

Dr. Georg Radam
 Dr. Hansjürg Strauch
 Institut für Gerichtliche Medizin
 der Humboldt-Universität Berlin
 DDR-104 Berlin, Hannoversche Straße 6