

Messung des Testosterongehaltes in Blutflecken zur kriminalistischen Geschlechtsbestimmung

Julia Szendrényi und Vilmos Földes

Gerichtsmedizinisches Institut der Medizinischen Universität Szeged, Kossuth Lajos-sgt. 40,
H-6724 Szeged, Ungarn

The Measurement of Testosterone Content of Blood Stains for the Criminalistic Determination of Sex

Summary. The authors have examined the testosterone content of the blood samples from 32 women and 24 men by a radio-immunoassay technique in order to prove the method to be suitable to determine the sex from blood stains in criminalistic investigations or not.

Based on the analysis of the results the testosterone determination can reliably be used to decide whether the blood stain was of female or male origin if the concentration is referred to the protein content.

Key words: Blood stains, determination of sex – Determination of sex, blood stains – Determination of testosterone

Zusammenfassung. Es wurde der Testosteronegehalt der Blutproben von 32 weiblichen und 24 männlichen Probanden mit der Radio-Immunoassay-(RIA)-Methode untersucht, um zu ermitteln, ob das Verfahren zur Geschlechtsbestimmung bei der kriminalistischen Untersuchung von Blutproben geeignet ist.

Aufgrund der Ergebnisse ist festzustellen, daß die auf Proteineinheiten bezogene Testosteronbestimmung mit dem RIA-Verfahren mit Sicherheit zur Entscheidung der Frage herangezogen werden kann, ob ein Blutstropfen von einer Frau oder einem Mann stammte.

Schlüsselwörter: Blutspuren, Geschlechtsbestimmung – Geschlechtsbestimmung, in Blutflecken – Testosteronbestimmung, Blutflecken

Zu den wichtigsten Fragen der Kriminalistik gehört die Feststellung, ob ein Blutfleck von einem Mann oder einer Frau herrührt. Ihre Beantwortung stellt auch heute ein schweres Problem dar, da die Bestimmung der Y-Chromosomen-

frequenz selbst in den Händen des geübten Untersuchers eine sehr arbeitsaufwendige Aufgabe ist [5, 8]. Bei Männern können auch falsch negative Ergebnisse vorkommen [4]. Nach Schwinger und Tröger (1977), sowie neueren Mitteilungen von Thomsen (1978) sind die individuellen Unterschiede erheblich; die Häufigkeit des Y-Chromatin läßt mit zunehmender Lagerungsdauer des Blutflecks — auch unter optimalen Bedingungen — schnell nach; bei Aufbewahren in von der Raumtemperatur abweichenden Temperaturen ist die Verminderung derart beschleunigt, daß das Material schon innerhalb einer Woche zur Untersuchung unbrauchbar werden kann.

Dies veranlaßte uns, nach einer anderen, die Beantwortung der Frage ermöglichenden Methode zu suchen.

Die RIA-Methode der Testosteronbestimmung erschien von mehreren Gesichtspunkten für unsere Zwecke geeignet, da der Serum-Testosterongehalt ausgesprochene Geschlechtsunterschiede aufweist. Bei Frauen gibt es keine zyklische Schwankung [3], bei Männern sind das Serum-Testosteronniveau beeinflussende pathologische Zustände selten, und die Veränderung ist auch dann nicht so hohen Grades [7, 9, 12], daß der geschlechtliche Unterschied nicht bewertbar wäre.

Das Testosteron ist — wie die Verbindungen mit Sterangerüst allgemein — ein sehr stabiles Molekül, es erleidet auch nach monatelanger Lagerung keine Zersetzung und ist thermischen wie auch chemischen Einflüssen gegenüber widerstandsfähig.

Die RIA-Methode ist — in Anbetracht ihres Antigen-Antikörper-Reaktionscharakters — ein außergewöhnlich spezifisches Verfahren und dank ihrer isotopischen Meßtechnik auch hochgradig empfindlich. Ihre 10^{-12} g-Sensibilität ist bei kriminalistischen Untersuchungen — wo dem Untersucher oft nur winzige Blutmengen zur Verfügung stehen — ein besonders wichtiger Gesichtspunkt.

Material und Methodik

Zu den Versuchen fand ein von der WHO herausgegebenes Testosteron-Antiserum und von den Radiochemical Centre Amersham, England in den Handel gebrachtes tritiiertes Testosteron mit einer spezifischen Aktivität von 93 Ci/nmol Verwendung.

Die Charakteristika der in Kaninchen gegenüber Testosteron-3-carboxymethyloxim-BSA-Antigen produzierten Testosteronantikörper mit ihrem Titer von 1:210000 sind:

Spezifität:	% Kreuzreaktion:
5 α -Dihydrotestosteron	14
4-Androstendion	0,8
Cortisol	<0,001
5 α -Androstandiol	6
5 Androstandiol	2,1

Der Testosterongehalt der Proben wurde nach Aso und Mitarb. (1975) mit der RIA-Methode von Brenner und Mitarb. (1973) unter der Abwandlung bestimmt, daß wir von der chromatographischen Reinigung der Extrakte Abstand nahmen. Dies war ermöglicht durch die gute Spezifität der Testosteronantikörper. Die Trennung des gebundenen und des freien Testosteron geschah mit 1% aktiver Tierkohle.

Die Messung der Isotopen-Aktivität geschah mittels Liquidszintillations-Spektrometer Type ISOCAP-300.

Empfindlichkeit der Methode: 5–10 pg (90% B/B₀).

Die von den Modellversuchen benutzten Blutproben stammten von 32 unausgewählten Frauen und 24 unausgewählten Männern. Die einzelnen Proben wurden in zwei Teile geteilt: aus dem einen wurde der Testosterongehalt des Serums bestimmt und von dem anderen 2 × 20 µl auf gewaschene Leinwand geträufelt und eingetrocknet.

Das Trocknen erfolgte bei Raumtemperatur; die aus ein- und derselben Probe stammenden Flecke wurden nach 48 h bzw. nach 6 Wochen untersucht wie folgt:

Der gesamte Fleck wurde ausgeschnitten, mit der Schere zerkleinert, dann in 2 ml physiologischer Kochsalzlösung 30 min bei 60°C unter Schütteln eluiert und anschließend mit 10 ml Äthzer extrahiert.

Die Extrakte wurden trockengedampft, nach Zugabe von 0,3 ml RIA-Puffer (0,1 M Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, 0,9% NaCl, 0,1% Gelatine und 0,1% Na-Azid) 0,1 ml davon in RIA-Bindung gebracht und aus 0,1 ml — bei Anwendung von tritiiertem Testosteron als innerem Standard — Zurückgewinnungsversuche unternommen.

Ergebnisse und Besprechung

Der Testosterongehalt der getesteten Sera entsprach den normalen klinischen Werten mit ausgesprochenem Geschlechtsunterschied: der Testosterongehalt im Blut der Männer betrug ca. das Fünffache von dem der Frauen (Abb. 1).

In den *von den Frauen entnommenen* Blutproben — auf Leinwand geträufelt — bewegte sich der Testosteronwert nach 48stündiger Inkubation zwischen 9,6 und 34,2 pg; Mittelwerte: $22,76 \pm 8,7$ pg/20 µl.

Die *von den Männern stammenden* Flecken enthielten durchschnittlich $93,5 \pm 24,7$ pg Testosteron. Der niedrigste gefundene Wert betrug 68,4 und der höchste 129,5 pg.

Die sechswöchige Lagerung bewirkte keinerlei Änderung im Testosterongehalt; es resultierten praktisch mit den nach 48 h erhaltenen übereinstimmende Werte (Abb. 2).

Bei Anwendung eines inneren Standards war ein Rückgewinn von $95 \pm 3,6\%$ zu verzeichnen, d. h. die angewandte Eluierung war von hohem Wirkungsgrad und Irrtumsmöglichkeiten infolge eventuell unvollkommener Elution waren befriedigenderweise auszuschließen.

Da die mit der automatischen Pipette aufgenommenen 20 µl Blut auf der Leinwand Flecke von 0,5–1 cm² Größe ergaben, schien es wahrscheinlich, daß im Falle der Untersuchung eines unbekanntes Blutfleckes die identische — z. B. 1 cm² — Größe der Flecken keine adäquate Vergleichsbasis bietet. Zwecks Standardisierung haben wir dann nach der Methode von Lowry (1953) auch den Eiweißgehalt der Blutflecken von sechs Männern und fünf Frauen bestimmt. Der auf 10 mg Protein bezogene Testosterongehalt betrug bei Frauen 12,1–33,4 pg; bei Männern hingegen 80,1–220 pg, was eine gute Möglichkeit zur Ermittlung der Geschlechter bedeutet.

Aufgrund der Ergebnisse halten wir bei der Untersuchung unbekannter Blutflecke unbedingt die Bestimmung des Eiweißgehaltes für erforderlich, da der auf Protein-Einheit bezogene Testosterongehalt zur Differenzierung der Geschlechter eine sicherere Grundlage bietet als die Untersuchung pro Einheit Fleckgröße (Abb. 3).

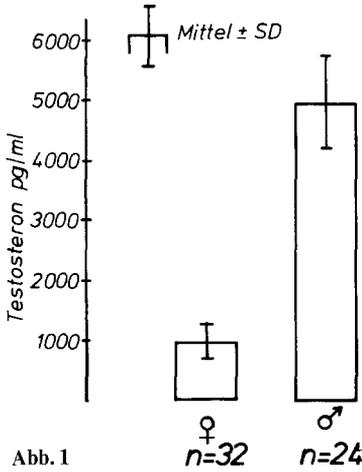


Abb. 1

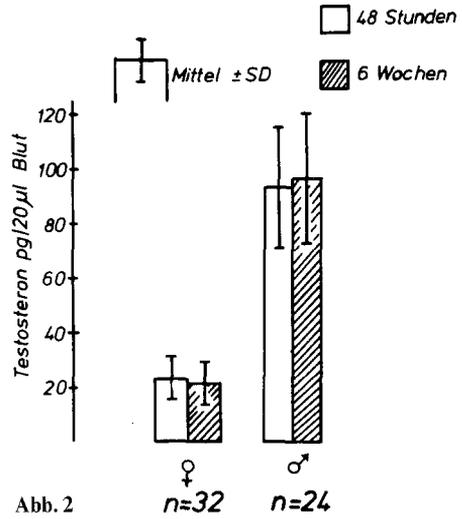


Abb. 2

Abb. 1. Testosterongehalt weiblicher und männlicher Sera. Mittel \pm SD; n = Zahl der Fälle

Abb. 2. Testosterongehalt der aus gewaschener Leinwand eluierten weiblichen und männlichen Blutflecke nach 48stündiger und sechswöchiger Lagerung bei Raumtemperatur. Mittel \pm SD; n = Zahl der Fälle

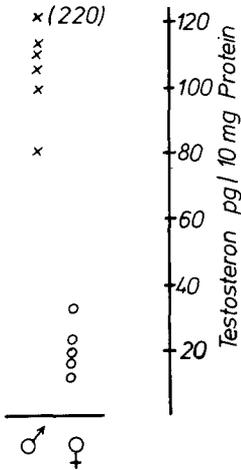


Abb. 3. Testosterongehalt weiblicher und männlicher Blutproben auf 10 mg Eiweiß bezogen

Die Ergebnisse der Modellversuche lassen feststellen, daß die mit der RIA-Methode erfolgende Bestimmung des auf Proteineinheiten bezogenen Testosterongehaltes mit großer Sicherheit zur Entscheidung der Frage herangezogen werden kann, ob ein Blutfleck von einem Mann oder von einer Frau hergerührt hat.

Die Ausdehnung der RIA-Methode in weiteren Kreisen dürfte auch ihre routinemäßige kriminalistische Anwendung möglich machen.

Danksagung. Dem WHO-Laboratorium der Universitäts-Frauenklinik Szeged sprechen die Autoren für die Durchführung der Testosteronbestimmungen auch an dieser Stelle ihren Dank aus.

Literatur

- 1 Aso T, Guerrero R, Cekan Z, Diczfalusy E (1975) A rapid 5 h radioimmunoassay of progesterone and oestradiol in human plasma. *Clin Endocrinol* 4:173
- 2 Brenner PF, Guerrero R, Cekan Z, Diczfalusy E (1973) Radioimmunoassay method for six steroids in human plasma. *Steroids* 22:775
- 3 Frölich M, Brand EC, Van Hall EV (1976) Serum levels of unconjugated aetiocholanolone, androstenedione, testosterone, dehydroepiandrosterone, aldosterone, progesterone and oestrogens during the normal menstrual cycle. *Acta Endocrinol* 81:548
- 4 Kringsholm B, Thomsen JL, Henningsen K, Niebuhr E (1976) Fluorescent Y-bodies in interphase nuclei: medicolegal aspects of false negative males. *Forens Sci* 7:171
- 5 Kringsholm B, Thomsen JL, Henningsen K (1977) Fluorescent Y-chromosomes in hairs and blood stains. *Forens Sci* 9:117
- 6 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1953) Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265
- 7 Magrini G, Lemarchand-Beraud T, Ruedi B, Felber JP, Vannotti A (1973) Plasma levels of sex steroids and gonadotrophins in male infertility and impotency. *Acta Endocrinol (Suppl)* 177:abstr No 56
- 8 Philips AP, Gitsham C (1974) The identification of male bloodstains by Y-chromosome fluorescence. *J Forens Sci Soc* 14:47
- 9 Purvis K, Landgren BM, Cekan Z, Diczfalusy E (1975) Indices of gonadal function in the human male. II. Seminal plasma levels of steroids in normal and pathological conditions. *Clin Endocrinol* 4:247
- 10 Schwinger E, Tröger HD (1977) Wie sicher ist die Geschlechtsbestimmung in Blutspuren? *Beitr Gerichtl Med* 35:267
- 11 Thomsen JL (1978) Influence of the temperature on the detection of fluorescent Y-bodies in blood stains. *Forens Sci* 11:123
- 12 Vermeulen A (1973) Plasma levels of androgens and testicular abnormalities. *Acta Endocrinol (Suppl)* 177:abstr No 389

Eingegangen am 14. Februar 1980