

## **Die Anwendung der Histoelktrofokussierung zur Bestimmung der PGM<sub>1</sub>-Subtypen an menschlichen Körpergeweben \***

**M. Oya, A. Kido, N. Komatsu und R. Shibata**

Lehrstuhl für Rechtsmedizin der Medizinischen Universität Yamanashi,  
Tamaho-mura, 409-38 Yamanashi-ken, Japan

### **The Application of Histoelctrofocusing to the Determination of PGM<sub>1</sub> Subtypes in Tissues of the Human Body**

**Summary.** The present study reports the successful application of histoelctrofocusing to the determination of PGM<sub>1</sub> subtypes in various tissues of the human body. The method described here is of practical use in individualizing parts of cadavers stored for up to 1 week.

**Key words:** Histoelctrofocusing, PGM<sub>1</sub> subtypes – PGM<sub>1</sub> subtypes, in tissues – Identification of parts of cadavers, PGM<sub>1</sub> subtypes

**Zusammenfassung.** Die vorliegende Arbeit berichtet über die erfolgreiche Anwendung der Histoelktrofokussierung zur Bestimmung der PGM<sub>1</sub>-Subtypen an verschiedenen menschlichen Körpergeweben. Die hier angegebene Methode ist zur Individualisierung von bis zu 1 Woche gelagerten Leichenteilen von praktischem Nutzen.

**Schlüsselwörter:** Histoelktrofokussierung, PGM<sub>1</sub>-Subtypen – PGM<sub>1</sub>-Subtypen, an Geweben – Identifikation von Leichenteilen, PGM<sub>1</sub>-Subtypen

Bei Leichenzerstückelungen oder bei Massenkatastrophen wie Flugzeugunglücken und Explosionen hat der Rechtsmediziner oft die Aufgabe, Leichenteile einer bestimmten Person zuzuordnen. Dabei sind für die Feststellung der individuellen Prägung Blutgruppenmerkmale von großer Bedeutung. Zu diesem Zwecke sind AB0-Merkmale, Gm- und Inv-Faktoren und PGM-Enzymgruppen am besten geeignet (Oepen 1977; Hoste et al. 1977; Stölmacher und Haferland 1981).

Mittels isoelektrischer Fokussierung unterteilten Bark et al. (1976) die bei der konventionellen Stärkegelelektrophorese vorkommenden 3 PGM<sub>1</sub>-Phänotypen

\* Diese Arbeit wurde z. T. von der Alexander von Humboldt-Stiftung unterstützt  
*Sonderdruckanfragen an:* Prof. Dr. M. Oya (Adresse siehe oben)

**Tabelle 1.** Überblick über die Nachweismöglichkeit der PGM<sub>1</sub>-Subtypen an menschlichen Körpergeweben

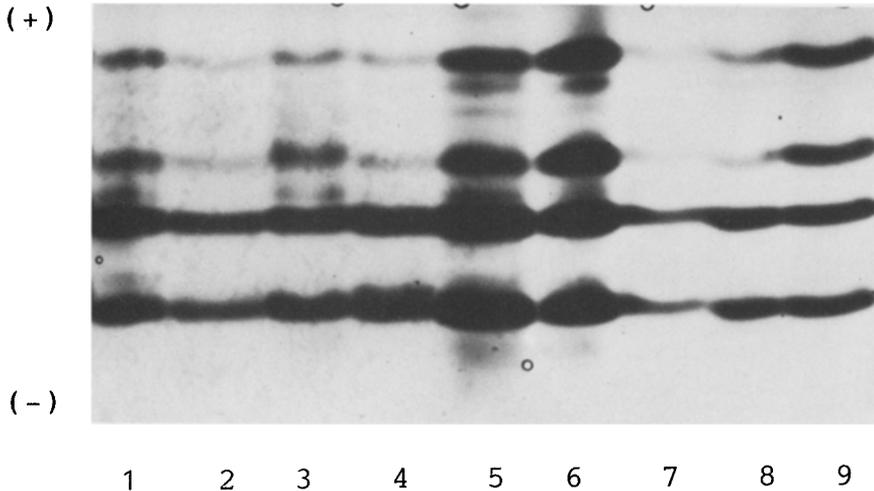
Nr.	Leichenalter	PGM <sub>1</sub> -Subtyp	Haut	Muskel	Gehirn	Lunge	Herz	Leber	Pankreas	Milz	Niere
1	8 h	1+1+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	12 h	1+1+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	15 h	1+2+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	15 h	1+1+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	18 h	1+2+	/	+	+	+	+	+	+	+	+
6	20 h	1+1+	+	+	/	+	+	+	+	+	+
7	24 h	1+1-	+	+	/	+	+	+	+	+	+
8	24 h	1+1+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	36 h	1+1+	+	+	+	+	+	+	/	+	+
10	48 h	1+1+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	48 h	1+1+	+	+	+	+	+	+	+	+	/
12	3 T	1+1+	+	+	+	+	+	+	/	/	+
13	4 T	1+1+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	5 T	1+1+	+	+	+	+	+	+	/	+	+
15	5 T	1+1-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	5 T	1+2+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	7 T	1+2-	/	+	+	+	+	+	+	+	+
18	7 T	1+1+	+	+	+	+	+	+	+	/	+
19	7 T	2+2+	+	+	+	+	+	+	-	/	/
20	7 T	1+1+	-	+	+	+	+	+	+	/	+
21	10 T	1+1-	+	+	+	+	+	+	+	+	/
22	10 T	1+1+	+	+	/	-	+	+	-	-	-
23	14 T		-	-	/	-	-	-	-	/	-
24	14 T		-	-	/	-	-	-	-	-	-
25	14 T		-	-	/	-	-	-	-	/	-

T: Tage

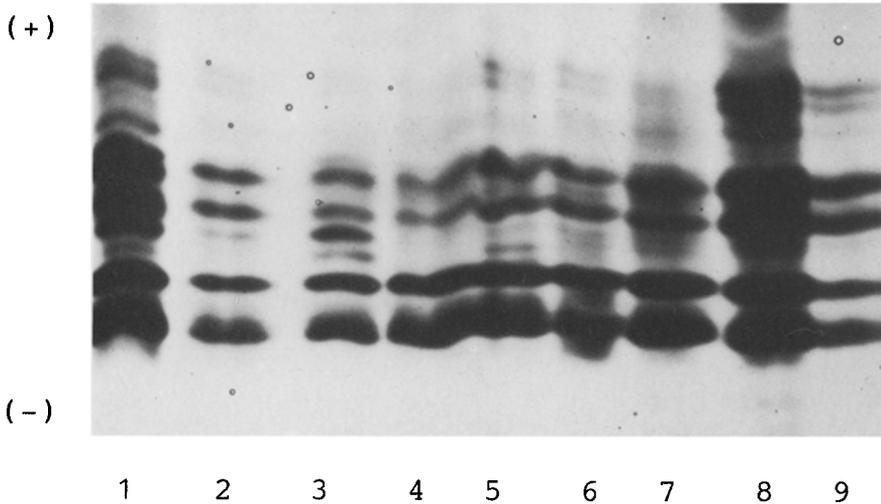
+: Nachweisbar

-: Nicht nachweisbar

/: Nicht untersucht



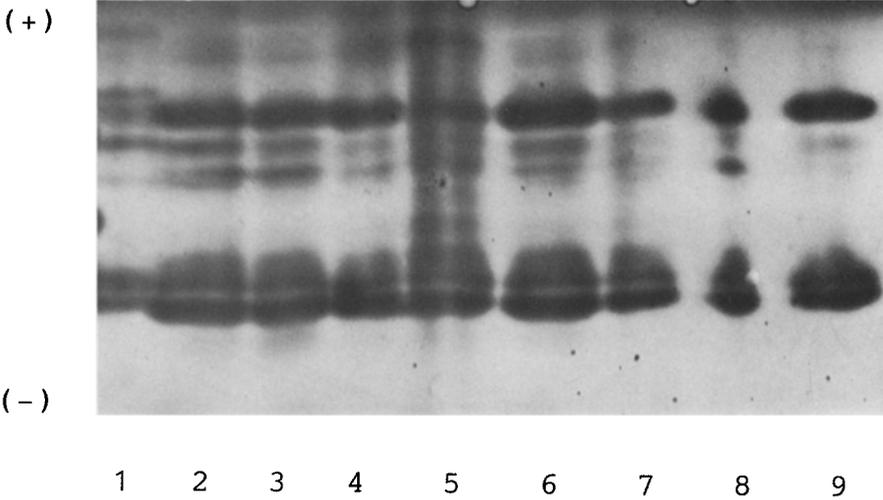
**Abb. 1.** PGM<sub>1</sub> 1+2+ an 15 h altem Leichenmaterial (Nr. 3). 1: Haut; 2: Niere; 3: Milz; 4: Pankreas; 5: Leber; 6: Muskel; 7: Lunge; 8: Herz; 9: Gehirn



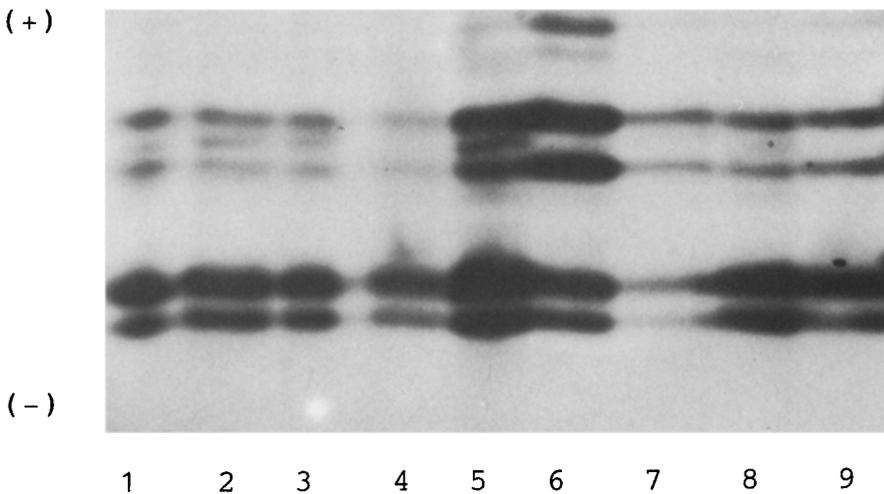
**Abb. 2.** PGM<sub>1</sub> 1+2- an 7 Tage altem Leichenmaterial (Nr. 17). 1: Blut; 2: Leber; 3: Milz; 4: Pankreas; 5: Lunge; 6: Niere; 7: Herz; 8: Muskel; 9: Gehirn

weiter in 10 Subtypen, die auf die Existenz von 4 Subtypenallelen zurückgeführt werden. Tutsch-Bauer et al. (1981) berichteten kürzlich, daß die PGM<sub>1</sub>-Subtypisierung an bis zu etwa 1 Woche bei Zimmertemperatur gelagerten Gewebeproben möglich sei.

Neuerdings hat Bonte (1978) in einer Enzymanalyse von Hautverletzungen festgestellt, daß man zur isoelektrischen Fokussierung auch Kryostatschnitte direkt auf Flachgelen verwenden kann. In der vorliegenden Arbeit soll über die Anwendung der von Bonte (1978) beschriebenen Histoelektrofokussierung zum



**Abb. 3.** PGM<sub>1</sub> 1+1+ an 7 Tage altem Leichenmaterial (Nr. 18). 1: Blut; 2: Haut; 3: Niere; 4: Pankreas; 5: Leber; 6: Muskel; 7: Lunge; 8: Herz; 9: Gehirn



**Abb. 4.** PGM<sub>1</sub> 1+1- an 5 Tage altem Leichenmaterial (Nr. 15). 1: Haut; 2: Niere; 3: Milz; 4: Pankreas; 5: Leber; 6: Muskel; 7: Lunge; 8: Herz; 9: Gehirn

forensischen Nachweis der PGM<sub>1</sub>-Subtypen aus menschlichen Körpergeweben berichtet werden.

### Material und Methode

Von 25 menschlichen Leichen wurden anlässlich gerichtlicher Obduktionen neben Herzblut folgende Gewebe entnommen: Haut, Muskel (M. rectus abdominis), Gehirn, Lunge, Herz, Leber, Pankreas, Milz und Niere. Diese Gewebsproben wurden mit dem Messer in ca.

5 × 5 × 5 mm große, würfelförmige Gewebsblöcke geschnitten und bei -20° C eingefroren. 4–20 µm dicke Schnitte wurden mit dem Kryostat (Tissue Tek II, Miles Laboratory, Naperville, USA) bei -20° C hergestellt. 5 × 5 mm große Filterpapierplättchen (Toyoroshi Nr. 2, Tokyo, Japan) wurden mit der Pinzette in die Kryostatkammer hineingeführt und an die geschnittenen Gewebsscheiben leicht berührt, wodurch die Schnitte sofort an den Plättchen hafteten. Auf diese Weise ließen sich die Kryostatschnitte direkt auf das Gel auftragen.

Wir führten die isoelektrische Fokussierung auf dem Multiphor-Gerät (LKB, Bromma, Schweden) mit 0,5 mm dicken Ampholine-Polyakrylamidgelplatten vom pH-Bereich 5–7 hauptsächlich nach der Methode von Bark et al. (1976) durch. Anodenlösung 1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>; Kathodenlösung 1 M NaOH. Vorfokussierung für 1 h bei 500–1300 V; Platzierung der Filterpapierplättchen mit den Gewebsschnitten 2 cm vom Anodenstreifen entfernt; daraufhin Anfeuchten mit physiologischer Kochsalzlösung; weitere Fokussierung für 3 h bei 1800 V und 5 mA (Maximalwert); nach 1 h Entfernung der Plättchen. Nach Beendigung der Fokussierung Darstellung der Isoenzymbanden mittels Sandwich-Technik nach Kühnl (1979); Inkubation für 30 min bei 37° C.

### Ergebnisse und Diskussion

Unsere Methode hat im wesentlichen befriedigende Ergebnisse erbracht, die mit denjenigen von Tutsch-Bauer et al. (1981) übereinstimmen. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Nachweismöglichkeit der PGM<sub>1</sub>-Subtypen an menschlichen Körpergeweben.

Bei allen untersuchten Geweben von frischen Leichen war ohne Ausnahme eine richtige PGM<sub>1</sub>-Subtypisierung möglich (Abb. 1).

An Geweben, die von etwa 1 Woche gelagerten Leichen entnommen worden waren, ließen sich noch die PGM<sub>1</sub>-Isoenzymbanden nachweisen (Abb. 2); sie färbten sich jedoch in Einzelgeweben ziemlich schwach an. In solchen Fällen ist es ratsam, dickere Schnitte (ca. 50 µm) zu verwenden. In einigen Fällen (Nr. 12, 13, 14, 18, 20 und 22) beobachteten wir eine Aufspaltung der Bande 1+1+ in 2 Fraktionen, so daß der Typ 1+1+ als der Typ 1+1- abgelesen werden konnte, wie in Abb. 3 zu sehen ist. Hier muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß der Abstand zwischen den gespaltenen Banden der PGM<sub>1</sub> 1+1+ etwas kleiner ist als derjenige zwischen den Banden 1+ und 1- in Abb. 4. Ähnliche Erscheinungen sind bereits von Berg et al. (1981) in einer Untersuchung von gelagerten Blutproben berichtet worden. Auf jeden Fall bedarf es einiger Referenzproben.

An etwa 2 Wochen gelagerten Leichengeweben waren keine sichtbaren PGM<sub>1</sub>-Isoenzymbanden zu finden. Nach einer Lagerungszeit von mehr als 2 Wochen gelang der Versuch nicht mehr wegen Madenfraßes bzw. Autolyse der Gewebe, insbesondere im Gehirn durch eine deutliche Fäulnisveränderung.

Abschließend ist festzustellen, daß die Anwendung der Histoelektrofokussierung eine sichere PGM<sub>1</sub>-Subtypisierung an bis zu etwa 1 Woche gelagerten menschlichen Körpergeweben erlaubt. Die hier angegebene Technik ist einfach zu handhaben und ohne Homogenization der Gewebe und ohne Extraktion des Enzyms ausführbar. Die Methode ist somit in der rechtsmedizinischen Praxis zur Identifizierung von Leichenteilen von großem Nutzen.

### Literatur

- Bark JE, Harris MJ, Firth M (1976) Typing of the common phosphoglucomutase variants using isoelectric focusing—a new interpretation of the phosphoglucomutase system. *J Forensic Sci Soc* 16: 115–120

- Berg S, Ladiges M-L, Ladiges O (1981) Der Einfluß von Blutspuren- und Spurenalterung auf das PGM<sub>1</sub>- und Gc-Subtypenmuster. *Z Rechtsmed* 87 : 85-94
- Bonte W (1978) Die Histoelektrofokussierung – eine Möglichkeit zur Lösung quantitativer fermenthistochemischer Probleme. *Naturwissenschaften* 65 : 67-68
- Hoste B, Brocteur J, Andre A (1977) Choice of the most suitable tissues for blood grouping of cadavers. *Ref Bd 7, Int Tagg Ges forens Blutgruppenkd, Hamburg*, S 349-360
- Kühnl P (1979) Elektrofokussierung in der forensischen Serologie – Arbeitsleitung zur Bestimmung von Serumprotein- und Isoenzym polymorphismen. *LKB-Broschüre, Bromma*, S 21-28
- Oepen I (1977) Zur Blutgruppenprägung menschlicher Körpergewebe. In: *Fortschritte der Hämatologie, Bd 4, Blutgruppen 4. Johann Ambrosius Barth, Leipzig*, S 309-350
- Stölmacher P, Haferland W (1981) Histoelektrophorese zur Typisierung von Enzymsystemen menschlicher Körpergewebe. *Z Rechtsmed* 87 : 249-252
- Tutsch-Bauer E, Oya M, Tröger H-D (1981) PGM<sub>1</sub>-Fokussierung an frischen menschlichen Körpergeweben und nach Lagerung. *Ref Bd 9, Int Tagg Ges forens Blutgruppenkd, Bern*, S 155-160

Eingegangen am 9. Dezember 1983