

Der Versuch einer Einschätzung der Blutgruppzugehörigkeit von Knochen, die dem Verwesungsprozeß unterliegen

Roman Hauser

Institut für Gerichtliche Medizin der Medizinischen Akademie Gdańsk,
ul. Curie Skłodowskiej 3a, PL-80210 Gdańsk, Polen

Determination of Blood Group in Bones Undergoing Decay Process

Summary. The aim of the present study was to make generalizations concerning the results of serological examinations of bones subjected to the process of decay. The specimens examined were taken from the femur. Some of the specimens had been subjected to decay for a period of some years, after which they were examined using the absorption-elution method in accordance with classical principles. Finally, successive dilutions of eluted antibodies were performed with a view to establishing the “antigenic force” of the material under examination. It was found that, owing to the process of bone decay, there is a decrease in the original “antigenic force”, which is accompanied by the appearance (in a weak form) of non-specific serological reactions, which are much weaker in strength than specific ones. It was concluded that for the interpretation of the actual blood group of decayed bones the term “diagnostic” can only be applied to a range of dilutions not exceeding that of non-specific agglutinations.

Key words: AB0 antigens, determination – Blood types, decomposed bones

Zusammenfassung. Ziel dieser Arbeit war es, die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen von Knochen, die dem Verwesungsprozeß unterlagen, zu objektivieren. Die untersuchten Knochenteile wurden dem Schenkelknochen entnommen. Ein Teil von ihnen war ein paar Jahre dem Verwesungsprozeß ausgesetzt. Die Knochenproben wurden dann mit Hilfe der Absorptions-Elutionsmethode nach klassischen Regeln untersucht, wobei letztlich die eluierten Antikörper weiteren Verdünnungen unterzogen wurden, um die „Antigenkraft“ des untersuchten Materials zu bestimmen. Es wurde festgestellt, daß aufgrund des Verwesungsprozesses der Knochen

eine Verringerung der ursprünglichen „Antigenkraft“ auftritt, die von schwachen, untypischen serologischen Reaktionen begleitet wird, deren Kraft wesentlich schwächer als die typischer ist. Es wird angenommen, daß nur der Verdünnungsbereich, der den der untypischen Agglutinationen überschreitet, als diagnostisch bei der Interpretation der tatsächlichen Gruppenzugehörigkeit verwesteter Knochen anerkannt werden sollte.

Schlüsselwörter: AB0-Gruppensubstanz, Knochenzersetzung – Blutgruppen, AB0-Bestimmung am Knochen

Oft wurde Knochenmaterial zur Identifizierung unbekannter Leichen serologisch untersucht. Während die Interpretation der Untersuchungsergebnisse frischen Materials gewöhnlich keine Zweifel aufkommen ließen, waren die Ergebnisse, die das nach dem Tod untersuchte Material betrafen, oft fragwürdig. Das hatte seine Ursache im Einfluß des Verwesungsprozesses auf die Antigenstruktur [5, 6, 7].

In vorangegangenen Arbeiten [2, 3] wurde der Versuch unternommen, die Art und Weise zu präzisieren, in der die Mikroorganismen eine Veränderung des serologischen Erscheinungsbildes hervorrufen. Hierbei wurde nachgewiesen, daß ihre Wirkungsweise verschiedenartig ist und auf einer serologischen Aktivität gezüchteter als auch abgestorbener Bakterien beruht, und auf Veränderungen der antigenen Struktur, hervorgerufen durch bakterielle Enzyme. In diesen Arbeiten wurde ebenfalls versucht, die zu untersuchenden Knochenproben von den durch sie erworbenen aktiven serologischen Substanzen zu befreien.

Während jener Untersuchungen, unter Anwendung der Absorptions-Elutionsmethode, die eine Einschätzung der Gruppenzugehörigkeit von Knochenanteilen zum Ziel hatten, wurden deutliche Unterschiede im Charakter und in der Stärke der Agglutination der eluierten Antikörper Anti-A und Anti-B festgestellt. Während die Konglomerate der glutinierten Normalblutkörper in den Knochenproben frischen Materials eine uneinheitliche, unebene Oberfläche aufwiesen und schwer zerschlagbar waren, war die Oberfläche der Agglutinate, die während der Untersuchungen veränderten, serologisch untypisch reagierenden Knochenmaterials erhalten wurden, glatt und leicht zu zerschlagen.

Das bestätigt die Beobachtungen Camerons et al. [1] sowie Jenkins et al. [4], die eine schwächere serologische Aktivität beschreiben, es geht hierbei um Erythrozyten, die die erworbene Eigenschaft B besaßen.

Zur Objektivierung der serologischen Befunde bei der Untersuchung fäulnisveränderter Knochen sollten daher Untersuchungen durchgeführt werden, die eine Differenzierung der Agglutinationsstärke zum Ziel hatten.

Material und Methoden

Die in den Untersuchungen verwendeten Knochenteile stammten von 18 zufällig ausgesuchten Leichen beiderlei Geschlechts mit bekannter Blutgruppe: in 7 Fällen A, in sechs B, in vier 0 und in einem Fall AB. Die Teile wurden dem mittleren Abschnitt der Schenkelknochen

Table 1.

Blut- gruppe	Knochen		Verdünnungsstufen der eluierten Antikörper													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
A	I	anti-A	++	++	++	++	+	+	+	+	±	-				
		anti-B	-													
	II	anti-A	+	+	+	±	-									
		anti-B	±	±	-											
0	III	anti-A	+	+	+	±	±	-								
		anti-B	+	±	-											
B	I	anti-A	-													
		anti-B	++	++	++	++	++	+	+	+	±	-				
	II	anti-A	-													
		anti-B	+	+	+	±	-									
B	III	anti-A	+	-												
		anti-B	+	+	+	+	+	+	±	-						
B	I	anti-A	-													
		anti-B	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	±	-	
	II	anti-A	+	±	±	-										
		anti-B	+	+	+	±	-									
A	III	anti-A	±	±	-											
		anti-B	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-				
A	I	anti-A	++	++	++	++	+	+	+	+	+	-				
		anti-B	-													
	II	anti-A	+	+	+	±	-									
		anti-B	-													
AB	III	anti-A	++	+	+	+	+	+	+	+	±	-				
		anti-B	+	±	±	±	-									
AB	I	anti-A	++	++	++	++	++	+	+	+	±	-				
		anti-B	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	±	-		
	II	anti-A	+	+	+	±	-									
		anti-B	+	+	+	±	±	-								
AB	III	anti-A	++	+	+	+	+	+	+	+	±	-				
		anti-B	+	+	+	+	+	±	±	±	-					

entnommen, und jeder von ihnen wurde, ähnlich den vorangegangenen Untersuchungen [2, 3], dreigeteilt, so daß auf diesem Wege 3 Gruppen von Knochenstücken mit je 18 in jeder erhalten wurden. Die der ersten Gruppe wurden genauestens von allen Weichteilen gesäubert, die der Gruppe II und III jedoch wurden mit den Gewebeteilen folgenden Bedingungen ausgesetzt: einen Teil legte man in ein teilweise geschlossenes Glasgefäß mit Erdboden und Streu (II), zweiten Teil auch in ein Glasgefäß, aber unter Leitungswasser (III). Das so präparierte Material wurde einige Jahre in normaler Temperatur aufbewahrt. Danach wurden die Knochenteile zerkleinert in Teilchen mit einem Durchmesser von 0,3 bis 0,5 mm und Untersuchungen ihrer Gruppenabhängigkeit mit Hilfe der Absorptions-Elutionsmethode nach folgenden Regeln unterzogen: Knochenpulver wurde in 6 Häufchen zu je 70 mg geteilt, die in 6 Reagenzgläser gegeben wurden. In drei Reagenzgläser gab man 3 Tropfen Anti-A-Serum, mit einem Titer 1:128, in die drei nächsten 3 Tropfen Anti-B-Serum mit gleichem Titer. Die Reagenzgläser standen 24 Std in einer Temperatur von 4°C. Danach wurde das Serum entfernt und jede Probe 10mal mit einer 0,9%igen NaCl-Lösung gespült, die eine Temperatur von 4°C besaß. Während der Spülungen wurden die Proben energisch geschüttelt. Nach der letzten Spülung wurden jeder Probe 3 Tropfen 0,9%iger NaCl-Lösung hinzugefügt und dann 20 min einer Temperatur von 56°C ausgesetzt, um die Antikörper herauszulösen. Die so gewonnenen Antikörper jeder Serie aus 3 Reagenzgläsern wurden in ein sauberes Reagenzglas gegeben, so daß sich in ihm 9 Tropfen der Antikörper Anti-A oder Anti-B mit einem wesentlich schwächeren Titer als der anfängliche befanden. Anschließend wurden weitere Verdünnungen vorgenommen, indem man einen der 9 Tropfen in das 1. einer Reihe von Reagenzgläsern gab und die restlichen 8 Tropfen Antikörper mit einem Tropfen 0,9%iger NaCl-Lösung auffüllte und den nächsten Tropfen in das zweite Reagenzglas gab u. s. w. Nachdem diese Verdünnungen vorgenommen worden waren, wurde ihnen je ein Tropfen 0,5%iger Normalblutkörperchenlösung hinzugefügt (A und B) – in einer 1%igen Albuminlösung. Weiter wurde wie bereits bekannt [3] verfahren, wobei die zweifelhaften Agglutinationen (Symbol \pm) nicht berücksichtigt wurden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 ersichtlich.

Diskussion

In allen Knochenproben der Gruppe I wurden starke und deutliche Agglutinationen in den nacheinanderfolgenden Verdünnungen beobachtet (8–12, \bar{x} = 9). In dieser Knochengruppe stellte man in 4 Fällen auch schwache unspezifische Reaktionen fest (die zwei Verdünnungen nicht überschritten), obwohl, es Knochen waren, in denen die nach dem Tode ablaufenden Prozesse wesentlich langsamer und schwächer verliefen als in den zwei restlichen Gruppen.

Spezifische Agglutinationsreaktionen traten aber in den Knochenproben auf, die dem Verwesungsprozeß ausgesetzt waren, und zwar im Umfang von 1–7 Verdünnungen (\bar{x} = 4), unspezifische dagegen bis höchstens 3 Verdünnungen (\bar{x} = 1,4). Das bedeutet, daß während des Zersetzungsprozesses der Knochen eine Verringerung der ursprünglichen „Antigenkraft“ auftritt, die von verhältnismäßig schwachen nichtspezifischen serologischen Reaktionen begleitet wird, die deutlich schwächer sind als die beobachteten spezifischen Reaktionen. Wenn man in Betracht zieht, daß sich typische und untypische Agglutinationen in den verwesenden Knochen oft überlappen, kann als diagnostisch maßgebend nur der Verdünnungsbereich angesehen werden, der außerhalb des Bereichs der spezifischen Agglutination liegt, d. h. nach der 3. Verdünnung und sogar, um sicher zu gehen, 1 oder 2 Verdünnungen weiter.

So wäre also die Bewertung der tatsächlichen Gruppenzugehörigkeit durch die Expositionszeit des untersuchten Materials begrenzt, da die wahrscheinlich

auftretende ständige Verringerung der Antigenkraft im Endeffekt eine Interpretation des erhaltenen Ergebnisses unmöglich machen könnte.

Dies gilt nicht nur im Hinblick auf ein totales Verschwinden der Antigen-eigenschaft, wozu es letztendlich höchstwahrscheinlich kommt, sondern auch aufgrund des etappenweisen Auftretens unspezifischer Reaktionen.

Diese Ausführungen erlauben es noch nicht, die hier vorgeschlagene Methode als eindeutig und sicher zu bezeichnen, da noch nicht bekannt ist, welcher Veränderungsprozeß von serologischen Reaktionen in noch älterem Knochenmaterial, einschließlich archäologischem, auftritt. Sie scheint aber eine wesentliche Hilfe der Bewertungsobjektivierung der tatsächlichen Gruppenzugehörigkeit von Knochen zu sein, die einer mehrjährigen Exposition ausgesetzt waren, d. h. von den Knochengruppen, mit denen man es in der gerichtsärztlichen Praxis am häufigsten zu tun hat.

Literatur

1. Cameron C, Graham F, Dunsford I, Sickles G, Macpherson CR, Cahan A, Sanger R, Race RR (1959) Acquisition of B-like antigen by red blood cells. *Br Med J* 2:29
2. Hauser R, Raszeja S, Pawłowski R, Samet A (1984) Mikrobielle Kontamination der Antigene AB0 im Knochengewebe. *Z Rechtsmed* 92:189
3. Hauser R, Pawłowski R, Samet A (1983) Oznaczenie antygenów grupowych w kościach poddanych procesowi gnicia. *Arch Med Sąd i Krym* 33:91
4. Jenkins GC, Brown J, Lincoln P, Dodd BE (1972) The problem of the acquired B antigen in forensic serology. *Forensic Sci J* 12:597
5. Pereira M (1973) AB0 grouping of decomposed human tissue. *J Forensic Sci* 13:33
6. Springer GF, Williamson P, Brandes W (1961) Blood group activity of gramnegative bacteria. *J Exp Med* 113:1077
7. Springer GF (1970) Importance of blood-group substances in interactions between man and microbes. *Ann NY Acad Sci* 169:134

Eingegangen am 2. August 1985