

Immunhistochemische Studie zum Verteilungsmuster der AB0-Blutgruppensubstanzen an männlichen Genitalorganen

R. Scheithauer und D. Romstöck

Institut für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg, Universitätsstr. 22, D-8520 Erlangen, Bundesrepublik Deutschland

Immunohistochemical Study on the Distribution of ABH Blood Group Substances in the Male Genitalia

Summary. The distribution of the ABH antigens was investigated in 11 different sections of the male genitalia in 53 autopsy cases; the peroxidase-anti-peroxidase technique was used. Specific staining of the epithelia differed considerably among and between individuals. Nonsecretors showed a tendency toward less staining in the epithelia, whereas in the endothelia there was no difference. A₂ cases could be recognized, as the endothelia were marked almost completely with anti-H. In A₂B nonsecretor epithelia and endothelia, there was only a minimal reaction with anti-A and anti-H. Spermatozoa were irregularly stained in the ampulla of the vas deferens, whereas in the testis and epididymis no reaction could be found.

Key words: Immunohistochemistry, ABH antigens – Blood group substances – Male genitalia

Zusammenfassung. Die Verteilung der ABH-Antigene wurden an 11 verschiedenen Abschnitten des männlichen Genitaltrakts von 53 Sektionsfällen mit der Peroxidas-anti-Peroxidase-Technik untersucht. Die Blutgruppenmarkierung der verschiedenen Epithelstrukturen differierte inter- und intraindividuell erheblich. Bei Nichtsekretoren zeigte sich eine tendenziell geringere Anfärbung der Epithelien, während am Endothel keine Unterschiede festgestellt wurden. A₂-Fälle unterschieden sich von A₁-Fällen durch eine weitgehende Markierung der Endothelien bei anti-H. Bei einem A₂B-Nichtausscheiderfall reagierten Epithelien und Endothelien mit anti-A und anti-H nur minimal. Spermien konnten unregelmäßig in der Ampulla des Ductus deferens angefärbt werden, während sie am Hoden und Nebenhoden negativ reagierten.

Schlüsselwörter: Immunhistochemie, AB0-Antigene – Blutgruppensubstanzen, an männlichen Genitalorganen

1. Einleitung

Die immunhistochemische Peroxidase-anti-Peroxidase-Technik, von Sternberger et al. 1970 eingeführt, hat in der Pathologie und hier besonders in der Tumordiagnostik seit langem große Bedeutung. In der Rechtsmedizin findet sie seit den Arbeiten von Pedal zur Blutgruppenprägung an menschlichen Geweben in jüngster Zeit reges Interesse (Pedal und Hülle 1984; Pedal und Baedecker 1985; Pedal et al. 1985, 1986; Schmechta 1985; Poetsch-Schneider 1986).

Bei ersten eigenen Untersuchungen an menschlichen Ejakulaten fiel neben den Spermatozoen reichlich differenzierbares und nicht differenzierbares Zellmaterial auf. In Hinblick auf eine mögliche forensische Verwertbarkeit der immunzytochemischen Blutgruppenbestimmungen an Genitalabstrichen (Brinkmann et al. 1986) sollte das Verhalten aller relevanten Strukturen des männlichen Genitaltrakts untersucht werden.

2. Material und Methode

Von 53 Männern aus dem Sektionsgut des Instituts wurden die Genitalorgane en bloc entnommen und in 7%igem ungepufferten Formalin fixiert. Die AB0-Blutgruppe wurde direkt am Blut bestimmt. Die Ausscheidereigenschaft im AB0-System wurde in allen Fällen an der Glandula submandibularis und zum Teil auch an der Niere immunhistochemisch festgestellt, zusätzlich wurden in einigen Fällen Organextrakte der Glandula submandibularis und Oral-ausstriche im Absorptionstest untersucht.

Es standen zur Verfügung:

15 × A₁-Ausscheider (Se), 2 × A₁-Nichtausscheider (se), 3 × A₂ Se, 1 × A₂ se, 5 × B Se, 1 × B se, 2 × A₁B Se, 1 × A₂B se, 19 × 0 Se und 4 × 0 se.

Folgende anatomische Abschnitte wurden untersucht (Abb. 1):

1. Hoden, peripherer Abschnitt (Lobuli testis)
2. Hoden, zentraler Abschnitt (Rete testis)
3. Übergang von Hoden zu Nebenhoden (Ductuli efferentes)
4. Nebenhoden, Körper (Ductus epididymidis)
5. Samenleiter, mittlerer Abschnitt (Ductus deferens)
6. Samenleiter, Ampulle (Ampulla ductus deferentis)
7. Harnleiter (Ureter)
8. Bläschendrüsen (Vesicula seminalis)
9. Prostata, peripherer Abschnitt (Hauptdrüsen)
10. Prostata, Bereich Samenhügel (Colliculus seminalis)
11. Harnröhre (Urethra masculina)

Die histologische Aufarbeitung erfolgte in üblicher Weise; Einbettmedium war Paraplast.

Die 3 µm dicken Schnitte wurden auf Aceton-gereinigte Objektträger aufgezogen, die mit Poly-L-Lysin-Hydrobromid, Molekulargewicht 150000–300000 (Sigma Best. Nr. P 1399; 1mg/ml Aqua bidest) benetzt worden waren. Lösung und benetzte Objektträger wurden im Kühlschrank gelagert. Nach dem Aufziehen wurden die Schnitte für eine Stunde bei 65°C im Brutschrank belassen und mindestens eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur abgekühlt. Die Lage der jeweils 3 Schnitte einer Serie pro Objektträger wurde mit einem Diamantstift gekennzeichnet. Beliebige Zeit später, aber immer unmittelbar vor der Färbung wurde entparaffiniert (2 × Xylol je 5 min, 2 × Äthanol absolut und 2 × Äthanol 96% je 3 min, kurzes Eintauchen in Tris-Puffer, s. u.).

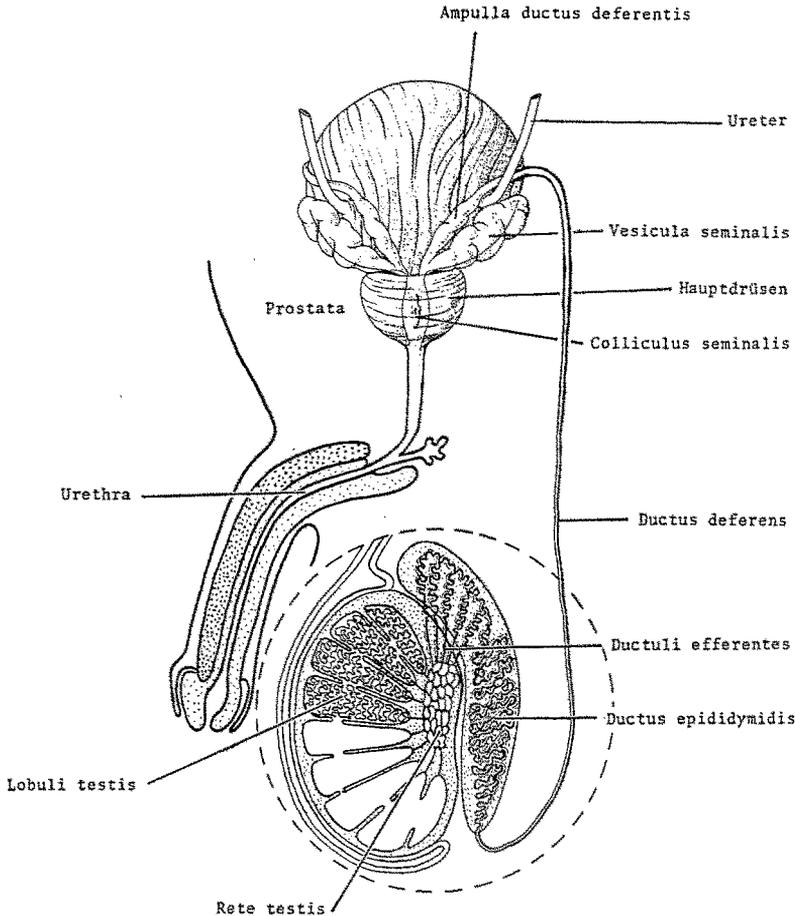


Abb.1. Untersuchte Abschnitte der männlichen Geschlechtsorgane nach: Schiebler TH (Hrsg) Lehrbuch der gesamten Anatomie des Menschen. 1. Auflage 1977. Springer, Berlin, Heidelberg, New York; Schiebler TH, Peiper U (Hrsg.) Histologie. Lehrbuch der Histologie und mikroskopischen Anatomie des Menschen nach der amerikanischen Ausgabe von Junqueira LC, Carneiro J; 1. Auflage 1984. Springer, Berlin, Heidelberg, New York

Als erster Schritt der Färbung wurde mit Schweineserum (Eigenproduktion), 1:6 verdünnt, bei Raumtemperatur für 20 min, dann mit Methanol/ H_2O_2 (200 ml Methanol und 50 ml 3% H_2O_2) für 10 min vorbehandelt. Bei dem eigentlichen immunhistochemischen Arbeitsgang lagen die Objektträger auf einer Glasplatte über Eis. Auf die jeweils 3 Schnitte eines jeden Objektträgers wurde monoklonales anti-A-Serum (Biotest, Best. Nr. 801320; Verdünnung 1:40), anti-B-Serum (Biotest, Best. Nr. 801345; Verdünnung 1:30) und anti-H-Serum (Fresenius, Best. Nr. 4008431; Verdünnung 1:3) aufgetragen und 30 min inkubiert. Anti-Maus-Serum vom Kaninchen (Bionetics, Best. Nr. 8403-09, zu beziehen über Fresenius; Verdünnung 1:200), anti-Kaninchen-Serum vom Schwein (Dakopatts, Best. Nr. Z 196; Verdünnung 1:200) und der PAP-Komplex vom Kaninchen (Dakopatts, Best. Nr. Z 113; Verdünnung 1:300) wurde nacheinander aufgetragen und jeweils 20 min inkubiert. Zwischen jedem Arbeitsgang wurden die Objektträger gespült und für 5 min in ein Pufferbad eingelegt (Trispuffer, 0,05 M, pH 7,6: 15,25 g Tris in 125 ml Aqua bidest., 92,5 ml 1N HCl auf 2,5 l aufgefüllt, pH-Wert eingestellt; Gebrauchspuffer = 10% dieses Stammpuffers + 90% physiologischer Kochsalzlösung). Die Seren wurden mit demselben Puffer verdünnt.

Tabelle 1a. Ergebnisse bei den Epithelstrukturen. *pos*: Anfärbung aller Epithelien; *neg*: keine Anfärbung; *-x%*: bis zu x% der Epithelien angefärbt; *Leere Felder*: keine Anfärbung

1. Lobuli testis						2. Rete testis		
A	B	H	AB0	Se/se	n	A	B	H
pos		neg/pos	A ₁	Se	15	pos		neg
pos		neg	A ₁	se	2	pos		
neg		neg	A ₂	Se	3	pos		neg
neg		neg	A ₂	se	1	pos		neg
	pos	neg/-50%	B	Se	5		pos	neg
	pos	neg	B	se	1		pos	neg
		neg/-30%	0	Se	19			neg/-30%
		neg/pos	0	se	4			neg/-5%
pos	pos	neg	A ₁ B	Se	2	pos	pos	neg
neg	pos	neg	A ₂ B	se	1	neg	pos	neg

3. Ductuli efferentes						4. Ductus epididymidis		
A	B	H	AB0	Se/se	n	A	B	H
-50%		neg	A ₁	Se	15	pos		neg
-3%		neg	A ₁	se	2	pos		neg
-40%		-3%	A ₂	Se	3	-3%		neg
70%		neg	A ₂	se	1	neg		neg
	-30%	neg	B	Se	5		pos	neg
	neg	neg	B	se	1		pos	neg
		-20%	0	Se	19			-20%
		neg	0	se	4			-5%
-50%	-50%	neg	A ₁ B	Se	2	pos	pos	neg
neg	neg	neg	A ₂ B	se	1	neg	pos	neg

5. Ductus deferens						6. Ampulla ductus deferentis		
A	B	H	AB0	Se/se	n	A	B	H
-100%		neg	A ₁	Se	15	-90%		-100%
neg/pos		neg	A ₁	se	2	-90%		neg/3%
neg/pos		neg/-80%	A ₂	Se	3	-90%		-100%
pos		30%	A ₂	se	1	-80%		pos
	neg/-30%	neg	B	Se	5		-100%	-100%
	neg	neg	B	se	1		neg	neg
		neg/-100%	0	Se	19			pos
		neg	0	se	4			neg/-10%
pos	pos	neg	A ₁ B	Se	2	-80%	-80%	pos
neg	neg	neg	A ₂ B	se	1	3%	3%	neg

Tabelle 1b. Ergebnisse bei den Epithelstrukturen. *pos*: Anfärbung aller Epithelien; *neg*: keine Anfärbung; *-x%*: bis zu x% der Epithelien angefärbt; *Leere Felder*: keine Anfärbung

7. Ureter						8. Vesicula seminalis		
A	B	H	AB0	Se/se	n	A	B	H
-100%		-40%	A ₁	Se	15	-100%		-100%
pos		neg	A ₁	se	2	neg/30%		neg/3%
pos		neg	A ₂	Se	3	-50%		pos
neg		90%	A ₂	se	1	pos		pos
	-100%	-40%	B	Se	5		-100%	-100%
	pos	3%	B	se	1		3%	3%
		pos	0	Se	19			pos
		neg	0	se	4			-100%
neg	3%	neg	A ₁ B	Se	2	pos	pos	pos
			A ₂ B	se	1	neg	3%	neg

9. Prostata Hauptdrüse						10. Colliculus seminalis		
A	B	H	AB0	Se/se	n	A	B	H
-50%		-40%	A ₁	Se	15	-50%		-5%
-50%		neg/10%	A ₁	se	2	-50%		neg
-70%		-30%	A ₂	Se	3	-50%		neg/3%
90%		neg	A ₂	se	1	30%		neg
	-50%	-40%	B	Se	5		-50%	neg/3%
	-50%	neg	B	se	1		-50%	neg
		-30%	0	Se	19			-50%
		neg	0	se	4			neg/-20%
3%	3%	neg	A ₁ B	Se	2	-5%	-50%	3%
neg	3%	neg	A ₂ B	se	1	neg	-30%	neg

11. Urethra					
A	B	H	AB0	Se/se	n
-100%		-40%	A ₁	Se	15
pos		neg	A ₁	se	2
-50%		-5%	A ₂	Se	3
90%		40%	A ₂	se	1
	-100%	-40%	B	Se	5
	-100%	neg	B	se	1
		-100%	0	Se	19
		neg	0	se	4
pos	-80%	-50%	A ₁ B	Se	2
neg	pos	neg	A ₂ B	se	1

3. Ergebnisse

3.1. Endothel

An allen A, B, 0 und A₁B-Fällen zeigte sich für die betreffende Blutgruppe unabhängig von der Ausscheidereigenschaft eine positive Anfärbung. Bei den A₁, B und A₁B-Fällen fand sich am Endothel auch bei der anti-H-Färbung zumeist zu etwa 2–10%, bei Einzelnen bis 50% eine positive Reaktion. Diese Angabe bezieht sich auf die Zahl der (als 100% gesetzten) A- bzw. B-positiven Kapillaren und Gefäße. Bei den A₂-Fällen war auch bei anti-H eine weitgehend vollständige Markierung vorhanden. Bei dem einzigen A₂B se-Fall reagierte das Endothel bei anti-B vollständig, bei anti-A und anti-H nur zu etwa 2–10% positiv.

3.2. Epithel

Die Ergebnisse der Epithelanfärbung sind der Tabelle 1a und 1b zu entnehmen. Sie sind der Übersicht wegen vereinfacht zusammengefaßt, enthalten jedoch die ganze Bandbreite der Einzelresultate (s. auch Abb. 2).

3.3. Spermien und Sekret

Spermien wurden nur dann beurteilt, wenn ihre Identifizierung eindeutig möglich war. An Hoden und Nebenhoden waren Spermien und Sekret nicht spezifisch angefärbt; an Bläschendrüsen, Prostata und Harnröhre waren keine Spermien vorhanden. Positive Spermienanfärbung wurde ausschließlich in der Ampulla ductus deferentis gesehen (Abb. 3).

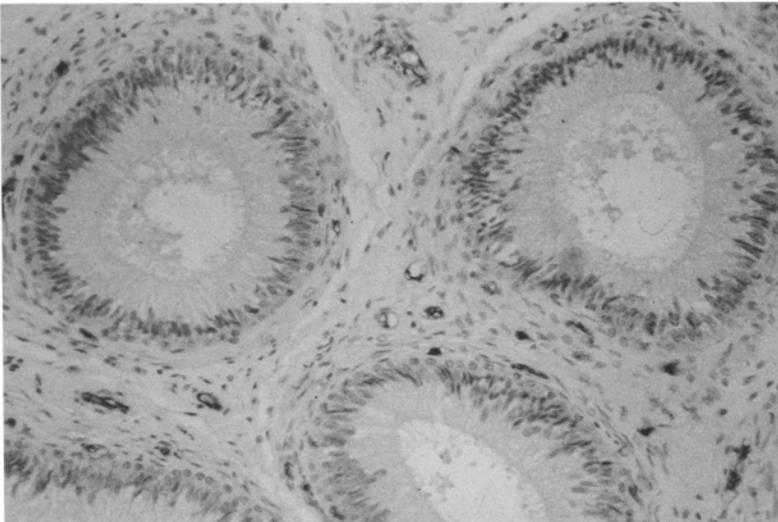


Abb. 2. Nebenhodenkörper, Blutgruppe 0, Färbung nach anti-H

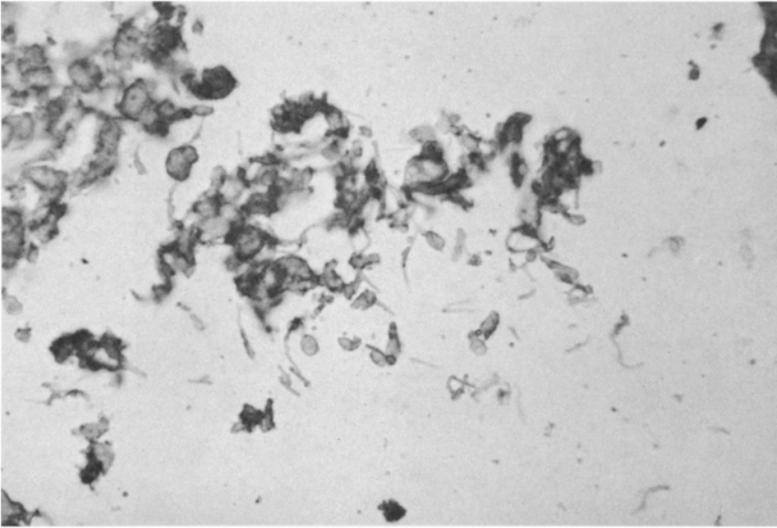


Abb. 3. Ampulla des Samenleiters, Blutgruppe 0, Färbung nach anti-H

Die Ergebnisse sind im einzelnen dem Abschnitt Diskussion (4.4.) zu entnehmen.

4. Diskussion

4.1. Technisches Vorgehen bei der immunhistochemischen Bearbeitung

Die Inkubationszeiten und Serumverdünnungen wurden nach Vorversuchen in Anlehnung an Pedal und Hülle 1984 und Bourne 1983 festgelegt. Abweichend hierzu wurde im ersten Schritt mit Schweineserum (1:6 verdünnt) und dann erst mit Methanol/H₂O₂ geblockt. Eine Vorbehandlung mit Trypsin wurde nicht durchgeführt.

Die Antikörperreaktionen wurden auf Eis durchgeführt. Dadurch wurde eine weitgehende Temperaturkonstanz erzielt und gleichzeitig ein Austrocknen durch den sich bildenden Feuchtigkeitsbeschlag auf den Objektträgern mühelos verhindert.

4.2. Bestimmung der Ausscheidereigenschaft

In allen Fällen wurde die Glandula submandibularis analog den Genitalorganen immunhistochemisch angefärbt. Eine positive Reaktion der serösen Drüsen bei anti-H zeigte das Vorliegen der Ausscheidereigenschaft an (entsprechend den Immunfluoreszenzuntersuchungen von Takahashi und Kamiyama 1985; Abb. 4). Zur Kontrolle wurde bei 2/3 der Fälle die Ausscheidereigenschaft an Nierenschnitten nach Pedal und Hülle 1984 bestimmt. Darüber hinaus wurde in einem Drittel der Fälle ein auf Filterpapier getrockneter Oralabstrich oder Organextrakt von der Glandula submandibularis (Lötterle und Scheithauer 1984)

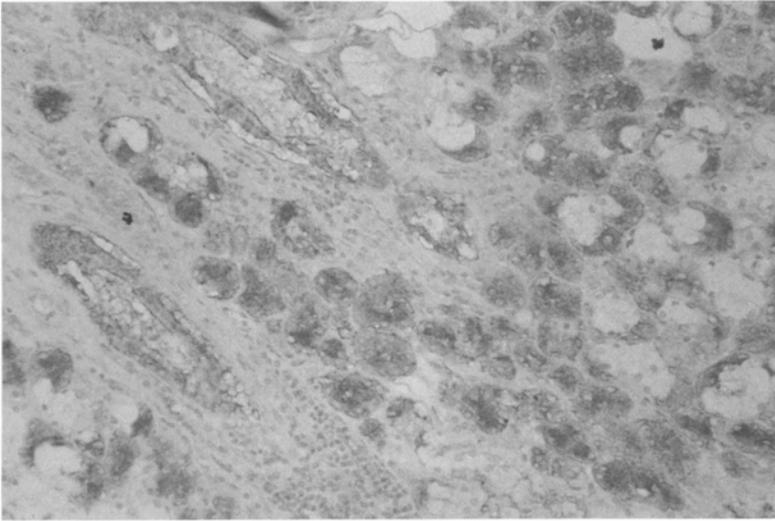


Abb. 4. Glandula submandibularis, Blutgruppe B, positive Markierung der serösen Drüsen bei anti-H

im Absorptionstest nach Holzer 1931 mit anti-H-Lectin bzw. anti-AB-Serum untersucht. Die Ergebnisse dieser drei Methoden stimmten überein.

4.3. AB0-Blutgruppenprägung der Endothelien und Epithelien

In Übereinstimmung mit Pedal und Hülle 1984 färbten sich die Gefäßendothelien und zum Teil auch Erythrozyten unabhängig vom Sekretorstatus bei der betreffenden Blutgruppe an.

Das von Lötterle und Heine 1986 an der Glandula sublingualis (nicht an der ebenfalls untersuchten Glandula submandibularis) beobachtete Phänomen, daß bei Sekretoren die Anfärbung der Kapillarendothelien und Erythrozyten fehlte, wurde an keiner der von uns untersuchten Strukturen gefunden.

In Abhängigkeit von färbetechnischen Parametern können an derselben anatomischen Struktur (Serienschnitt) Epithelanfärbungen vorhanden sein oder auch vollständig fehlen, obwohl die Endothelien sich in gleicher Weise anfärben und der Hintergrund negativ ist. Die positive Epithelmarkierung ist bei der Untersuchung antigenarmer (Epithel-)Strukturen als „innerer Standard“ wohl nur dann hinreichend, wenn gleichzeitig auf höchstmögliche Empfindlichkeit der Methode geachtet wird. Diese Abhängigkeit der Ergebnisse von Methode und verwendeten Seren zeigt sich auch daran, daß bei unseren A_1 , B und A_1B -Fällen (A_2B und A_2 ; s. u.) regelmäßig einzelne Endothelien auch mit anti-H reagierten, bei Lötterle und Heine 1986 dagegen nur bei Fällen der Blutgruppe 0.

Im Epithel von Nichtausscheidern war in unserer Untersuchung eine tendenziell geringere Blutgruppenprägung festzustellen, jedoch war der Unterschied zu den Ausscheidern nicht deutlich genug, um eine zuverlässige Unterscheidung zu ermöglichen. An der Bläschendrüse stimmte eine positive bzw. negative Markierung des Sekrets bei der betreffenden Blutgruppe und gleich-

zeitig bei anti-H (im Gegensatz zu den Epithelbefunden) regelmäßig mit der Ausscheidereigenschaft bzw. Nichtausscheidereigenschaft überein. Die Fallzahl der Nichtausscheider ist jedoch zu gering, um allgemein gültige Aussagen zu ermöglichen. Die Ergebnisse stehen mit früheren Absorptionstests am Bläschendrüsensekret (Lötterle und Scheithauer 1984) in Einklang.

An den Epithelien variierte die Blutgruppenprägung an den verschiedenen untersuchten Abschnitten im Verlauf des Genitaltrakts sehr stark. Deutliche Unterschiede fanden sich auch an identischen Strukturen von verschiedenen Individuen gleicher Blutgruppenprägung. In vielen Fällen der Blutgruppe A, B und AB war auch bei anti-H eine Markierung vorhanden. Falsch positive Ergebnisse traten nicht auf. Die beiden A₁B-Ausscheiderfälle verhielten sich im wesentlichen analog zu den A₁- und B-Fällen. Die Ergebnisse decken sich mit den Immunfluoreszenzuntersuchungen von Szulman 1962, der seine Befunde jedoch nur summarisch umriß.

Bei dem einzigen untersuchten A₂B (Nichtausscheider)-Fall zeigte sich bei der anti-B-Färbung eine vollständige, bei der anti-A und anti-H-Färbung dagegen nur eine Markierung von 2–10% der Endothelien. Am Epithel reagierte anti-A bei allen Strukturen negativ, anti-B variierte dagegen von negativ bis zu einer vollständigen Anfärbung der Zellen. Technische Fehler wurden ausgeschlossen. Diese Befunde hätten zu einer Fehlbeurteilung (Träger der Blutgruppe B) führen können. Ein A₂B-Ausscheiderfall stand nicht zur Verfügung. Der Hinweis von Pedal und Hülle 1984, wonach auch bei Verwendung monoklonaler Antikörper mit dem Übersetzen einer schwachen A oder B-Eigenschaft zu rechnen ist und daher auf den Einsatz von humanen anti-AB-Seren nicht verzichtet werden kann, scheint weiterhin gültig zu sein.

Bei den Fällen mit Blutgruppe A₂ war die überwiegende Zahl der Endothelien bei anti-H markiert, während bei den A₁-Fällen meist nur ein kleiner Teil positiv reagierte. Diese auffälligen Befunde wurden orientierend mit einer anderen Technik überprüft: nach 30minütiger Inkubation mit einer anderen Charge des anti-A- bzw. anti-B- bzw. anti-H-Serums derselben Hersteller wie oben angegeben, wurde 30 min mit einem peroxidase-konjugierten Antikörper vom Kaninchen gegen Mausimmunoglobuline (Dakopatts, Best. Nr. P 161; Verdünnung 1:200) inkubiert. Dabei fielen die oben beschriebenen Befunde bei anti-H zwar schwächer, aber gleichartig aus. Somit erscheint eine Differenzierung zwischen A₁ und A₂-Trägern möglich. Es bleibt zu prüfen, wie weit diese Befunde allgemein reproduzierbar sind bzw. doch von den verwendeten Seren und Methoden abhängen. Allerdings hatte bereits Szulman 1962 bei Immunfluoreszenz-Untersuchungen tendenziell entsprechende Resultate.

An den Endothelien der H-substanzreichen Glandula submandibularis wurde bei anti-H eine auffallend geringere Markierung gesehen. Möglicherweise sind diese Befunde auf „eine höhere Avidität des Antiserums zu den mukus- als zu den membrangebunden Antigenen“ (Lötterle und Heine 1986) oder ganz allgemein auf quantitative Antigenverhältnisse zurückzuführen.

Bei den Epithelien konnte bei den A₂-Fällen nur an einzelnen Strukturen ein zu den Endothelien analoges Verhalten festgestellt werden. An den meisten untersuchten Abschnitten reagierte anti-A und anti-H ohne erkennbares System, offenbar unabhängig voneinander, von negativ bis vollständig positiv.

An einer stark fäulnisveränderten Leiche (14 Tage Liegezeit im Hochsommer in einer Dachgeschoßwohnung) konnte die Blutgruppe serologisch nicht mehr festgestellt werden. Bei der immunhistochemischen Untersuchung konnte der Fall widerspruchlos der Blutgruppe A₂ zugeordnet werden.

4.4. ABO-Blutgruppenprägung von Spermien

An den verschiedenen anatomischen Strukturen des Hodens und Nebenhodens (peripherer Abschnitt des Hodens, zentraler Abschnitt des Hodens, Übergang zum Nebenhoden, Nebenhodenkörper) wurde weder am histologisch oft schwer differenzierbaren Inhalt des Lumens noch an sicher erkannten Spermatozoen eine positive Markierung gesehen.

Der nächste untersuchte Abschnitt, die Ampulla ductus deferentis, unterschied sich deutlich von den vorherigen. In mehr als der Hälfte der Fälle waren Sekretanfärbungen in Korrelation mit der vorliegenden Blutgruppe bei anti-A bzw. anti-B und am stärksten bei anti-H vorhanden. Gleichzeitig fand sich hier die stärkste Epithelmarkierung aller untersuchten Strukturen. Es ist daher anzunehmen, daß die aus der Physiologie bekannte stärkere sekretorische Aktivität auch Blutgruppensubstanzen betrifft. Allerdings ist angesichts der engen anatomischen Verhältnisse auch an einen Reflux des sehr stark Blutgruppensubstanzhaltigen Sekrets der Bläschendrüsen in die Ampulla zu denken.

Nur in den Fällen mit positiver Sekretanfärbung wurden auch blutgruppenmarkierte Spermien gesehen; umgekehrt fanden sich bei positiver Sekretanfärbung wiederholt vollständig negative Resultate an den Spermatozoen. Die positive Blutgruppenmarkierung betraf immer nur einen Teil der am Schnitt sicher erkennbaren Spermien. Bei den A, B und AB-Fällen war auch bei anti-H derselbe Befund zu erheben. Die Angaben beziehen sich nur auf Ausscheider. An den wenigen Nichtausscheiderfällen mit vorhandenen Spermien in der Ampulla war keine Anfärbung an diesen und am Sekret zu sehen. An den Schnitten der A₂-Fälle waren keine Spermien vorhanden. Falsch positive Spermienanfärbungen traten nicht auf. Angesichts der 12 verschiedenen Blutgruppeneigenschaften (ABO, Se/se) ist die Fallzahl für die einzelnen Kategorien wohl zu gering, um sichere allgemeingültige Aussagen zu ermöglichen.

Bereits Landsteiner und Levine 1926 gaben nach ihren Absorptionsversuchen an, daß die ABO-Blutgruppenantigene an den Spermien selbst enthalten sind. Takeda und Hiraiwa 1985 schlossen aus ihren Versuchen, daß die Antigene von den Spermienzellen selbst und nicht vom Seminalplasma stammen. Unsere Befunde, wonach Spermien immer nur dann markiert sind, wenn das Sekret reich an Blutgruppensubstanz ist, lassen danach nicht den naheliegenden Schluß zu, daß die Spermienzellen von außen mit Blutgruppensubstanz beladen werden. Gegen diese Annahme könnte auch sprechen, daß sich in unserer Untersuchung in Übereinstimmung mit Takeda und Hiraiwa 1985 immer nur ein Teil der Spermatozoen positiv anfärbte und bei Brinkmann et al. 1986 die Färbung an der Membran selbst gering oder nicht vorhanden war.

Für die mögliche spätere Untersuchung von Sexualdelikten mit der PAP-Methode ergab sich aus der Untersuchung der verschiedenen Strukturen vom

Ort der Spermio-genese bis zu Harnröhre, daß im Ejakulat neben Blutgruppen-substanzhaltigen Spermien und Sekret auch nicht Blutgruppenmarkierte Epi-thelien vorliegen können.

Literatur

- Bourne JA (1983) Handbook of immunoperoxidase staining methods. Dako Corporation, Santa Barbara
- Brinkmann B, Kernbach G, Rand S (1986) Cytochemical detection of ABH antigens in human body fluids. *Z Rechtsmed* 96: 111–117
- Holzer FJ (1931) Ein einfaches Verfahren zur Blutgruppenbestimmung an vertrocknetem Blut durch Agglutininbindung. *Dtsch Z Ges Gerichtl Med* 16: 445–458
- Landsteiner K, Levine P (1926) On group specific substances in human spermatozoa. *J Immunol* 12: 415–418
- Lötterle J, Scheithauer R (1984) Sekretoreigenschaft bei frischen und fäulnisveränderten Leichen. *Beitr Gerichtl Med XLII*: 251–254
- Lötterle J, Heine WD (1986) Expression von ABH- und Lewis-Antigenen an Speicheldrüsen – immunhistochemische Untersuchungen. *Verh Dtsch Ges Pathol* 70: 352–357
- Pedal I, Hülle J (1984) Immunenzymatische Bestimmung des AB0- und Sekretorstatus an paraffineingebettetem Autopsiematerial. *Z Rechtsmed* 93: 289–300
- Pedal I, Baedeker C (1985) Immunenzymatische Darstellung der Isoantigene A, B und H in fäulnisverändertem Nierengewebe. *Z Rechtsmed* 94: 9–20
- Pedal I, Kuhn K, Hülle J (1985) Immunhistochemische Bestimmung von mütterlicher und kindlicher Blutgruppe (AB0) an reifem Placentagewebe. *Z Rechtsmed* 94: 145–153
- Pedal I, Madea B, Oehmichen M (1986) Immunzytochemische Identifizierung AB0-inkompatibler Erythrozyten nach einem tödlichen Transfusionszwischenfall. *Z Rechtsmed* 97: 269–276
- Pötsch-Schneider L, Penzes L, Lorenz K (1986) Immunenzymatische AB0-Blutgruppenbestimmungen am Einzelhaar. *Z Rechtsmed* 97: 251–258
- Schmechta H (1985) Was bringt die Immunenzymtechnik für die (Blut-)Spurenkunde? *Kriminalistik forens Wiss* 57/58: 137–142
- Sternberger LA, Hardy PH Jr, Cuculis JJ, Meyer HG (1970) The unlabeled antibodyenzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem* 18: 315–333
- Szulman AE (1962) The histological distribution of the blood group substances in man as disclosed by immunofluorescence. *J Exp Med* 115: 977–996
- Takahashi M, Kamiyama S (1985) Immunohistological studies on ABH-activities in secretory cells of human major salivary glands – correlation between ABH-activities in the secretory cells and secretor-nonsecretor. *Z Rechtsmed* 95: 217–226
- Takeda K, Hiraiwa K (1985) AB0 blood group antigens of human spermatozoa. *Tohoku J Exp Med* 147: 267–272

Eingegangen am 18. März 1987