

Immunhistochemische Antigennachweise an eingetrockneten Gewebspartikeln

G. Fechner, S. Rand, K. Nishi, and B. Brinkmann

Institut für Rechtsmedizin der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster,
Von-Esmarch-Strasse 86, D-4400 Münster, Federal Republic of Germany

Immunohistochemical antigen identification from mummified tissue particles

Summary. Investigations were carried out on dried tissue samples for the identification of ABH antigens and human hemoglobin using the indirect immunoperoxidase technique (PAP). Samples from various organs were stored at room temperature over a period of 1 year and periodically examined immunohistochemically. By means of a rehydration medium, blood group and species identification were successfully demonstrated in the complete experimental series.

Key words: ABH antigens, immunohistochemistry – Species identification – Mummified tissue particles

Zusammenfassung. Mit Hilfe der indirekten Immunperoxidasetechnik (PAP) werden ABH-Antigene und humanes Hämoglobin in getrockneten Gewebeproben nachgewiesen. Die Proben verschiedener Organe wurden bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 1 Jahr gelagert und regelmäßig immunhistochemisch untersucht. Nach Anwendung eines Rehydrationsmediums gelang im gesamten Untersuchungszeitraum der Blutgruppen- und Speziesnachweis.

Schlüsselwörter: ABH-Antigennachweis, Immunhistochemie – Speziesnachweis – Mumifizierte Gewebeproben

Einleitung

Spurenkundliche Untersuchungen beschäftigen sich zumeist mit Blut- und Sekretspuren. Gelegentlich wird auch die Untersuchung von Gewebearhaftungen erforderlich. Über die histologische Aufarbeitung und Identifizierung mumifizierter Gewebearhaftungen haben wir kürzlich berichtet [5]. In Weiterführung

Tabelle 1. Ergebnisse der ABH-Antigenbestimmung mit der PAP-Technik

| Blutgruppe | n | Tests | |
|------------|---|-------|------|
| | | pos. | neg. |
| A | 3 | 42 | 0 |
| B | 1 | 18 | 0 |
| 0 | 1 | 20 | 0 |
| AB | 2 | 34 | 0 |

Tabelle 2. Ergebnisse der Anti-human-Hb-Bestimmung mit der PAP-Technik

| Organ | Test | |
|--------|------|------|
| | pos. | neg. |
| Haut | 16 | 1* |
| Leber | 10 | 2* |
| Niere | 20 | 0 |
| Gehirn | 16 | 1* |

* Kein Hb vorhanden

lich [5]. Praktisch uneingeschränkt positiv verliefen die Nachweise der verschiedenen ABH-Antigene und des Hämoglobins. Falsch positive Resultate wurden nicht beobachtet. Die Identifizierung der ABH-Antigene erfolgte an den ABH-exprimierenden Zellen, insbesondere an den Gefäßendothelien und an den Erythrozyten (z.B. [10], [11], [12]).

Der Hämoglobin-Nachweis war über den Beobachtungszeitraum ebenfalls regelhaft positiv, auch hier waren keine falsch positiven Resultate erzielt worden. Allerdings gilt hier die Einschränkung, daß in 4 Fällen der Hämoglobin-Nachweis nicht erbracht werden konnte – wegen fehlender bzw. praktisch nicht vorhandener Erythrozyten im Schnitt. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1 und 2 sowie in den Abb. 1 und 2 dargestellt.

Für beide Antigennachweise ließ sich ferner über den Untersuchungszeitraum eine deutliche Abschwächung der immunhistochemischen Reaktionen feststellen.

Die Anwendung der Mikrowellenstimulation ermöglichte eine Verkürzung der Rehydrationszeit ohne negative Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse [2; 5; 6].

Diskussion

In Vorversuchen wurden verschiedene Rehydratationsmedien überprüft [1; 9; 13; 14]. Diese sind stark basisch (pH 11), eignen sich ausgezeichnet für eine Re-

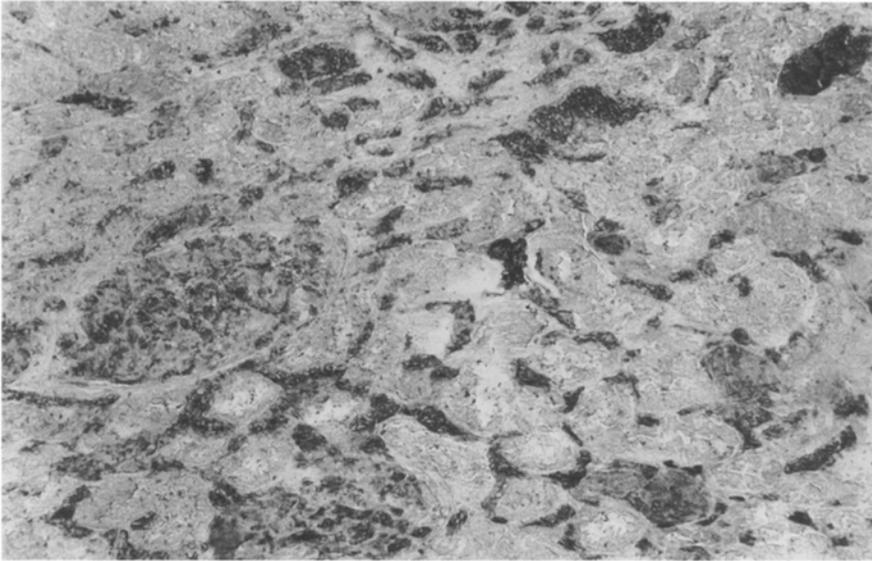


Abb. 1. Niere, Blutgruppe A, PAP-Technik, Lagerungsdauer 6 Monate (200 ×)

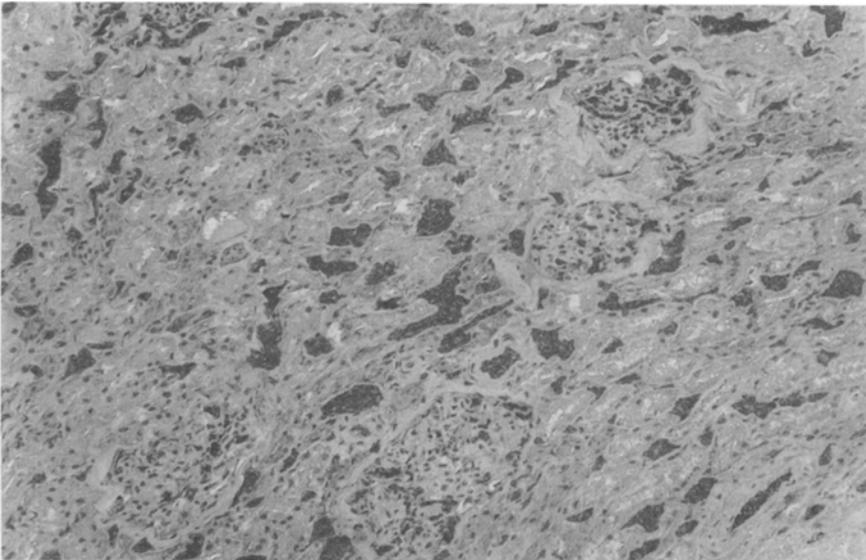


Abb. 2. Speziesnachweis mit anti-human-Hb, Niere, Lagerungsdauer 12 Monate, PAP (160 ×)

hydratation, die ABH-Substanz wird hierdurch jedoch offensichtlich zerstört. Aus diesem Grund verwenden wir das o.a. neutrale Medium.

Die PAP-Technik zum Nachweis der ABH-Antigene im Schnitt wurde bereits vielfach erwähnt [7; 8; 11; 12]. Auch wurde darauf hingewiesen, daß sie im fäulnisveränderten Material gelingen kann [10]. Daß dieser Nachweis am mu-

mifizierten Material über derart lange Zeiträume gelingt, erklärt sich wohl aus der hohen Trockenheit des Gewebes und der hiermit verbundenen Resistenz gegenüber mikrobiellen Einflüssen. Diese Feststellung eröffnet Möglichkeiten, an älteren Mumienorganen sicher die Blutgruppe zu bestimmen. Auf die widersprüchlichen Ergebnisse zu dieser Problematik in der Literatur sei hingewiesen. Diese Widersprüche erklärten sich zwanglos dadurch, daß die Ergebnisse durch serologische Methoden gewonnen wurden und damit der Bezug zur Morphologie fehlte. Serologische Reaktionen werden indes durch die auch bei Bakterien ubiquitären ABH-Antigene verfälscht.

Der Befund, daß regelhaft der Hämoglobin-Nachweis gelang, eröffnet weitere Perspektiven: Es passiert in der Praxis nicht allzu selten, daß Gewebesparten an Kraftfahrzeugen oder an Schienenfahrzeugen gesichert werden und eine Auskunft über die Spezies im Vordergrund steht. Natürlich kann man in solchen Fällen auch Extrakte oder Aufschwemmungen mit nachfolgender serologischer Reaktion durchführen. Die Reaktionen, welche an das Vorhandensein von Serum gebunden sind, gelingen nach unserer Erfahrung nicht immer. Außerdem wird hierdurch viel, manchmal das gesamte Material zerstört. — In der Kombination histologischer Organnachweise, des Speziesnachweises und des Nachweises individueller Merkmale sehen wir, im Vergleich zu der üblichen Methodensystematik, einen entscheidenden Vorteil.

Die Tatsache, daß sich die Reaktionsstärke mit zunehmendem Spurenalter abschwächt, ist von einer gewissen Bedeutung. Man sollte als Kontrolle wenigstens auch mehrere Monate altes Material mitführen. Die Notwendigkeit zur Mitführung von Kontrollen, aber auch umfangreiche Erfahrung in immunhistochemischen Untersuchungen ist nachhaltig zu betonen. Aus diesem Grund wird es auch nicht für sinnvoll gehalten, wenn Angaben über die von Charge zu Charge wechselnden optimalen Serumverdünnungen gemacht werden.

Literatur

1. Berg S, Rolle R, Seemann H (1981) *Der Archäologe und der Tod*. C J Bucher, München, Luzern, S 107
2. Boon ME, Kok LP, Ouwerkerk-Noordam (1986) Microwave-stimulated diffusion: reduced rehydrating, clearing, and impregnating times. *Histopathology* 10:303–309
3. Brinkmann B, Kernbach G, Rand S (1986) Cytochemical detection of ABH antigens in human body fluids. *Z Rechtsmed* 96:111–117
4. Fechner G, Petkovits T, Brinkmann B (1988) Morphologische Identifizierung mumifizierter Gewebsspuren. *Arch Kriminol* 182:154–158
5. Fechner G, Petkovits T, Brinkmann B (1988) Eine Schnellmethode zur Herstellung konventioneller histologischer Schnitte mittels Mikrowellenstimulation. *Festschrift für Prof. Holczabek (Hrsg G Bauer), Franz Deuticke, Wien*, 267–271
6. Hopwood D, Coghill G, Ramsey J, Milne G, Keer M (1984) Microwave fixation; its potential for routine techniques histochemistry, immunocytochemistry and electronmicroscopy. *J Histochem* 16:1171–1192
7. Ito N, Nishi K, Hirota T (1985) Localization of blood group antigens in formalin-fixed, paraffine-embedded human salivary glands and pancreas with lection-HRP conjugates. *Acta Histochem Cytochem* 18:644
8. Ito N, Nishi K, Nakajima M, Matsuda Y, Ishitani A, Mizumoto J, Hirota T (1986) Localization of blood group antigens in human pancreas with lectin-horseradish peroxidase conjugates. *Acta Histochem Cytochem* 19:205

9. Lewin PK, Cutz E (1976) Electron microscopy of ancient egyptian skin. *Br J Dermatol* 94: 573–576
10. Pedal I, Baedeker CH (1985) Immunenzymatische Darstellung der Isoantigene A, B und H in fäulnisverändertem Nierengewebe. *Z Rechtsmed* 94:9–20
11. Pedal I, Hülle J (1984) Immunenzymatische Bestimmung des AB0- und Sekretorstatus an paraffineingebettetem Autopsiematerial. *Z Rechtsmed* 93:289–300
12. Pedal J, Kuhn K, Hülle J (1985) Immunhistochemische Bestimmung von mütterlicher und kindlicher Blutgruppe (AB0) an reifem Plazentagewebe. *Z Rechtsmed* 94:145–153
13. Ruffer MA (1913) Studies in paleo-pathology in Egypt. *J Pathol Bacteriol* 18:149
14. Sandison AT (1955) The histological examination of mummified material. *Stain Technol* 30:277–283

Eingegangen am 14. July 1988