

Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Dipl.-Phys. H.-D. Wehner

**Immunzytochemische Untersuchungen biologischer
Spuren an Geschossen des Typs QD-PEP, sowie
Vollmantel- und Hohlsplitzgeschossen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Nikolaus Rudolf Maria Moos
aus
Aachen
2008

Dekan: Prof. Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter Privatdozent Dr. F. Wehner

2. Berichterstatter Prof. Dr. K. Dietz

Meinen lieben Eltern in großer Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	VII
Tabellenverzeichnis.....	VIII
Abkürzungsverzeichnis	IX
1 Einleitung und Fragestellung.....	1
2 Material	5
2.1 Organe	5
2.2 Material aus den Asservaten des Institutes.....	5
2.3 Gelatine.....	5
2.4 Labormaterialien	6
2.4.1 Geräte	6
2.4.2 Weiteres Zubehör	6
2.4.3 Chemikalien und Reagenzien	7
2.4.4 Verwendete Antikörper	12
2.5 Verwendete Schusswaffen.....	13
2.6 Geschosse	13
2.6.1 QD-PEP Geschosse der Fa. MEN (PEP)	14
2.6.2 Hohlspitzgeschosse (HSG).....	16
2.6.3 Vollmantelgeschosse (VMG)	17
3 Methodik.....	19
3.1 Versuchsplanung und Durchführung.....	19
3.2 Herstellung der Gelatineblöcke	21
3.3 Verfahren zur Gewinnung der Zellen	23
3.4 Histologie und Immunhistochemie	24
3.4.1 Zytologie und Histologie.....	24
3.4.2 Immunhistochemie / Immunzytochemie	25
3.4.3 Nachweis der Organspezifität der Färbungen.....	28
3.5 Färbeprotokoll	30
3.6 Auswertung	31
3.6.1 Vorgehensweise	31
3.6.2 Positiv- / Negativ- und Auslasskontrollen.....	32
4 Ergebnisse	34
4.1 Nachweis von Kardiomyozyten an PEP-Geschossen.....	34

4.2	Nachweis von Hepatozyten an PEP-Geschossen	35
4.3	Nachweis von Herz- und Leberzellen an PEP-Geschossen (Doppelfärbung)	36
4.4	Statistische Auswertung der Versuche mit PEP-Geschossen.....	38
4.5	Versuche mit weiteren Geschossen.....	39
4.5.1	Hohlspitzgeschosse (HSG).....	40
4.5.2	Vollmantelgeschosse (VMG)	42
4.6	Kreuzproben	44
4.7	Kontrollfärbungen.....	45
4.7.1	Positivkontrollen.....	45
4.7.2	Auslasskontrollen.....	46
4.7.3	Negativkontrollen	48
4.8	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	49
5	Diskussion.....	50
5.1	Epidemiologie	50
5.2	Ergebnisse	51
5.3	Fehlerquellen	57
5.4	Zeitabhängige Nachweisbarkeit der betreffenden Antigene.....	59
5.5	Ergänzende Nachweismöglichkeiten der einer Kugel zuzuordnenden Schussverletzung.....	60
5.6	Verfahren zur Zellgewinnung	61
5.7	Schlussfolgerung aus der Arbeit	64
6	Zusammenfassung.....	65
7	Glossar.....	67
8	Literaturverzeichnis	69
9	Anhang.....	74
9.1	Legende zu Tabellen.....	74
9.2	Versuchsergebnisse bei PEP-Geschossen.....	76
9.3	Auswertungsschema.....	79
9.4	Färbungsvorschriften	80
9.4.1	Allgemeine Vorschriften:	80
9.4.2	Nachweis Troponin I an Nativ-Material (LSAB-Methode).....	80
9.4.3	Nachweis HepPar1 an Nativ-Material (LSAB-Methode).....	84

9.4.4	Doppelfärbung auf Troponin I und HepPar1 an Nativ-Material ...	86
9.5	Datenblatt der QD-PEP (Fa. MEN)	88
9.6	Datenblatt der Geco VM-Munition (Fa. Ruag Ammotec Fürth)	89
9.7	Bildbeilage	90
10	Danksagung	93
11	Lebenslauf	94

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 – Aufbau einer Patrone.....	14
Abbildung 2 – PEP	14
Abbildung 3 – HSG.....	16
Abbildung 4 – VMG	17
Abbildung 5 – Folie.....	23
Abbildung 6 – Abstrich	24
Abbildung 7 – Prinzip der LSAB-Methode (Noll 2000).....	28
Abbildung 8 – Herzzellen von PEP-Geschoss asserviert durch Spurensicherungsfolie der Polizei mit Wattefäden aus Kugelfang	34
Abbildung 9 – Leberzellen von PEP-Geschoss (Abstrich).....	35
Abbildung 10 – Herzzellen (s. Pfeile) und Leberzellen (Kreis) nebeneinander nach Doppelfärbung	37
Abbildung 11 – Herzzellen von HSG (Abstrich).....	41
Abbildung 12 – Leberzellen von HSG (Abstrich)	41
Abbildung 13 – Herzzellen von VMG (Abstrich)	43
Abbildung 14 – Leberzellen von VMG (Abstrich).....	43
Abbildung 15 – Leberzellen (positiv, li.) vs. Auslasskontrolle (negativ, re.)	47
Abbildung 16 – Herzzellen (positiv, li.) vs. Auslasskontrolle (negativ, re.).....	47
Abbildung 17 – PEP-Geschosse im Gelatineblock mit Schusskanal.....	90
Abbildung 18 – Beschossenes Herz (1 Treffer, 2 Fehlversuche)	90
Abbildung 19 – Kugel mit makroskopisch sichtbaren biologischen Spuren im Gelatineblock	91
Abbildung 20 – Kugel mit makroskopisch sichtbaren Zellen nach Entfernung aus dem Gelatineblock im Labor	91
Abbildung 21 – Die verwendeten Geschosse nach Beschuss eines Gelatineblocks und Entfernung aus Selbigem (v.l. PEP, HSG, VMG).....	92
Abbildung 22 – Kügelchen eines PEP-Geschosses am Boden eines Gelatineblocks, an dem das Geschoss durch eine Spanplatte abgelenkt wurde	92
Abbildung 23 – Splitter eines HSG, welcher sich vom Geschoss löste	92

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 – Organspezifische Immunreaktion von Gewebe aus Mensch und Schwein nach Anfärbung mit dem Anti-HepPar1-Antikörper bzw. dem Anti-Troponin I-Antikörper (Wehner et al. 2007).....	29
Tabelle 2 – Auswertung der Schussversuche auf Herz und Leber.....	36
Tabelle 3 – Auswertung der Schussversuche mit Hohlspitzgeschossen.....	40
Tabelle 4 – Auswertung der Schussversuche mit Vollmantelgeschossen.....	42
Tabelle 5 – Ergebnisse der Kreuzprobe.....	44
Tabelle 6 – Positivkontrollen zu den Färbungen.....	45
Tabelle 7 – Auslasskontrollen zu den Färbungen.....	46
Tabelle 8 – Negativkontrollen zu den Färbungen.....	48
Tabelle 9 – Legende zu Tabellen in Textteil und Anhang.....	74
Tabelle 10 – Auswertung der Schussversuche auf Herzen.....	76
Tabelle 11 – Auswertung der Schussversuche auf Lebern.....	77

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABC – Methode	Streptavidin-Biotin-Peroxidase-Komplex Methode
Abk.	Abkürzung
Abs.	Absatz
AFP	Alpha-1-Feto-Protein
AG	Antigen
AK	Antikörper
AP	Alkalische Phosphatase
Aqua dest.	Destilliertes Wasser
Art.	Artikel
Aufl.	Auflage
BSA	Bovine Serum Albumin = Rinderserumalbumin
bspw.	Beispielsweise
bzw.	Beziehungsweise
CEA	Carcinoembryonales Antigen
CPS1	Carbamoylphosphatsynthetase 1
DNA	engl. Abk. für Desoxyribonukleinsäure
Ebd.	ebendieser
et al.	Und Weitere
Fa.	Firma
GG	Grundgesetz
H.	Hämatoxylin
HepPar1	Hepatocyte Paraffin 1 – Spezifisches, mitochondriales Antigen in Leberzellen, neueren Studien zufolge handelt es sich um die CPS1
HRP	Meerrettich-Peroxidase
Hrsg.	Herausgeber
HSG	Hohl(-mantel)Spitz-Geschoss
i. S. v.	Im Sinne von
Jhd.	Jahrhundert

l.	Liter
LSAB - Methode	Labeled-Streptavidin-Biotin-Methode
M	Molar (= mol/l)
MEK	Mobiles Einsatzkommando
PBS	Phosphat gepufferte Kochsalzlösung
PEP	Quick Defense Polizeieinsatzpatrone
s.	Siehe
S.	Seite
SEK	Sondereinsatzkommando
sog.	So genannte
STR	Short Tandem Repeats
Syn.	Synonym
TBS	Tris Buffer Saline (Tris-Puffer salzig)
u. a.	unter anderem
u. U.	Unter Umständen
Vgl.	Vergleiche
VM	Vollmantel
VMG	Vollmantel-Geschoss
z. B.	Zum Beispiel

1 Einleitung und Fragestellung

Im kriminalistischen Alltag hat sich gezeigt, dass Personen häufig nicht nur durch ein Tatwerkzeug, sondern gleich durch mehrere verletzt werden. In diesem Fall ist es jedoch nicht nur von entscheidender Bedeutung die Reihenfolge der Verletzungen aufzuzeigen, sondern auch nachzuweisen welche Verletzungen durch welches Tatwerkzeug verursacht worden sind. Wird zum Beispiel ein Opfer bei einem Schusswaffenangriff von mehreren Angreifern getroffen, so ist es möglich, dass nur einer der Schützen einen tödlichen Schuss bspw. ins Herz gesetzt hat, die anderen jedoch nicht. Die genaue Klärung des Tathergangs ist in solchen Fällen von entscheidender rechtsmedizinischer Relevanz.

Etablierte molekularbiologische Untersuchungen der biologischen Spuren an Geschossen können derzeit zwar im Rahmen einer DNA-Analyse zeigen, ob ein betreffendes Tatwerkzeug (hier: eine Kugel) auf das Opfer eingewirkt hat (Karger et al. 1996 a), nicht jedoch welche Organe hierbei in Mitleidenschaft gezogen wurden. Dabei belegen Case Reports, dass ein solcher Nachweis prinzipiell möglich ist (z. B. Smith & Harruff 1988). Ferner belegen vereinzelte Studien die Möglichkeit eines Nachweises biologischer Spuren durch zytologische Techniken (Di Maio et al. 1986, Nichols & Sens 1990, Knudsen 1993), aber systematische Untersuchungen unter kontrollierten Bedingungen wurden hierzu bisher nur für die Gewinnung von DNA an Geschossen beschrieben (Karger et al. 1996 a).

Die große Zahl an Veröffentlichungen über spurenkundliche Untersuchungen im Zusammenhang mit Schussverletzungen belegt deren Bedeutung im kriminalistischen Alltag. Es wurden bereits unzählige Verfahren beschrieben, die zur Klärung von Tathergängen regelmäßig wichtige Informationen liefern (Stein et al. 2000, Karger 2001, Jussila et al. 2005, Rendle 2005, um nur einige aus den letzten Jahren zu nennen). Schießt bspw. ein Schütze mit einer Schusswaffe auf eine andere Person, dann hinterlässt die Waffe auf Geschoss und Patronenhülse einen umfangreichen Spurenkomplex. Bei Selbstlade-pistolen hinterlassen bspw. der Schlagbolzen, der Stoßboden des

Verschlusses, die Auszieherkralle sowie der Auswerfer Spuren auf der Patronenhülse. Auch beim Magazinieren und Zubringen der Patrone entstehen oft schon charakteristische Spuren auf der Hülse noch bevor überhaupt ein Schuss gefallen ist. Die hierbei hinterlassenen Spuren können nicht nur zur Schusswaffensystembestimmung eingesetzt werden, sondern erlauben es in aller Regel ohne Weiteres die Hülse der Waffe zuzuordnen, aus welcher sie ausgeworfen wurde. Ferner werden auf dem Geschöß selber bspw. durch das Laufinnere (v. a. bei gezogenen Läufen) Spuren hinterlassen, welche es im Allgemeinen ermöglichen ein sichergestelltes Geschoss zweifelsfrei einer bestimmten Tatwaffe zuzuordnen, aus der es abgefeuert wurde. Schwierigkeiten ergeben sich hier vor allem bei Waffen mit nicht gezogenen Läufen wie bspw. bei Flinten (Schrotgewehre), bei denen ein Nachweis jedoch über die verwendete Munition und die differierenden Durchmesser der verwendeten Schrote verschiedener Schützen gelingen kann. Verformungen am Geschoss können ggf. weitere Hinweise zur Klärung des Tathergangs liefern, z. B. dann, wenn die Kugel vor dem Auftreffen durch ein anderes Objekt abgelenkt wurde (Karger 2001). In der Literatur ist z. B. ein Fall beschrieben, in dem ein operativ entferntes Geschoss starke Verformungen aufwies, welche darauf hinwiesen, dass es vor dem Auftreffen auf das Opfer durch ein anderes Objekt abgelenkt wurde (Huelke 1977). Auf dem Geschoss konnten Reste von Algen nachgewiesen werden, die identisch waren mit den Algen an einer Hauswand, die am Tatort sichergestellt werden konnten. Der Weg der Kugel konnte so zweifelsfrei nachvollzogen werden.

Ferner lassen Spuren an den potentiellen Schützen selber (z. B. Schmauchspuren auf Kleidung und Körper) häufig einen Rückschluss darüber zu, ob diese überhaupt die Waffe abgefeuert haben können (Zeichner 2003). Darüber hinaus verraten Spuren am Opfer Details über den Hergang der Tat. Das Schmauchspurenmuster gibt z. B. bei relativen und absoluten Nahschüssen Aufschluss über die vermutliche Schussentfernung des Schützen (Zeichner 2003). Die Lage und der Eintreffwinkel der Geschosse geben Hinweise auf den Winkel und die Position von Selbigem bei Abgabe des Schusses.

Trägt man alle diese Details zusammen ergibt sich meist schon ein recht genaues Bild über den Tathergang. Das diese Informationen aber nicht ausreichen um jede Tat zweifelsfrei zu rekonstruieren wird deutlich, wenn man sich komplexere Tathergänge anschaut. Im Falle eines Angriffes durch mehrere Personen wie zuvor geschildert (zwei Täter mit jeweils einer Schusswaffe) kann es sehr schwierig werden festzulegen, welche Handlung von welchem Täter für den Tod eines Menschen letztlich ursächlich war. Dazu müsste die Schusslage jedes einzelnen Schusses den einzelnen Tätern entsprechend zugeordnet werden können. Die betreffenden Kugeln den jeweiligen Waffen zuzuordnen bereitet, wie zuvor erwähnt, in der Regel keine großen Schwierigkeiten. Die abschließende Beweiskette lautet aber Verletzung – Geschoss – Tatwaffe – Täter (Karger 2001). Geht man von Durchschüssen aus, so müssten die einzelnen Kugeln also den jeweiligen Verletzungen des Opfers zugeordnet werden können. Wie zuvor an einem Einzelfall beschrieben hinterlassen Gegenstände, die ein Geschoss berührt, offensichtlich nachweisbare Spuren auf Selbigem, wie im Fall der Ablenkung der Kugel durch eine mit Algen bewachsene Hauswand. Auch dass prinzipiell Zellen des Opfers auf Kugeln zurückbleiben können, die dann eine DNA-Analyse ermöglichen, wurde bereits erwähnt. Fraglich ist allerdings, ob und vor allem wie zuverlässig Zellen der getroffenen Organe eines Opfers an den Geschossen zurückbleiben. Mit dem Nachweis eben solcher Zellen könnte man eindeutig zeigen, welche Organe die aufgefundenen Projektile verletzt haben. Anschließend könnten die Geschosse durch einen Ballistiker untersucht und den verwendeten Tatwaffen zugeordnet werden, um die notwendige Beweiskette zu schließen.

Die Notwendigkeit eines Nachweisverfahrens, welches eine Verbindung von Schussverletzungen und vorgefundenen Projektilen erlaubt, belegen z. B. bislang ungeklärte Fälle der Staatsanwaltschaft in Bayern, bei denen Personen von mehreren Kugeln und wahrscheinlich mehreren Schützen getroffen wurden, der genaue Hergang der Taten aber aufgrund widersprüchlicher Aussagen nie geklärt werden konnte (Diederichs 1997). Grund hierfür war, dass die Zuordnung der Verletzungen an den Opfern zu den infrage kommenden

Schützen im Nachhinein nicht mehr gelang, weil nicht mehr nachgewiesen werden konnte, welcher Schütze welche Verletzung verursacht hatte.

Ziel dieser Arbeit ist es daher zu prüfen, welchen Beitrag immunzytochemische Verfahren dazu leisten können, ebensolche mit bisher etablierten Verfahren meist nicht zu klärenden Sachverhalte aufzuklären. Es soll untersucht werden, ob und wenn ja wie häufig genügend Zellen an den Geschossen zurückbleiben, um diese immunzytochemisch aufzuarbeiten und die Organzugehörigkeit der betreffenden Zellen nachzuweisen. Hierzu sollen insbesondere QD-PEP Geschosse der Fa. MEN herangezogen werden, Projektile, welche z. B. im Rahmen des Polizeidienstes als mannstoppende Munition verwendet werden. Dabei soll ebenfalls die Brauchbarkeit von verschiedenen Asservierungsverfahren (Abstrichverfahren bzw. Asservierung der Zellen mittels adhäsiver Folie) überprüft und deren Ergebnisse miteinander verglichen werden. Die Organzugehörigkeit der am Geschoss sichergestellten Zellen wird durch den Nachweis organspezifischer Proteine im Rahmen immunzytochemischer Färbeverfahren nachgewiesen. Hierbei werden bestimmte organspezifische Antigene zuerst mit Antikörpern detektiert, und anschließend werden diese Antigen-Antikörper-Komplexe durch Chromogene farblich dargestellt und sichtbar gemacht. Zur spezifischen immunzytochemischen Markierung der Zellen wurden monoklonale Antikörper gegen ein mitochondriales Antigen in den Leberparenchymzellen zum Nachweis von Hepatozyten, sowie Antikörper gegen kardiales Troponin I zur spezifischen Detektion von Kardiomyozyten als Primär-Antikörper verwendet, da die entsprechenden Antigene sich als hochspezifisch für diese beiden Organe erwiesen haben.

Die im Rahmen der Arbeit beschriebenen und angewendeten Verfahrensweisen sollen nicht dazu dienen, eines der etablierten und bereits beschriebenen spurenkundlichen Verfahren im Falle von Schussverletzungen abzulösen. Sie sollen vielmehr als Ergänzungen verstanden werden, welche es ermöglichen sollen in komplizierten Fällen wertvolle zusätzliche Informationen zu erhalten, die zur Klärung eines Tathergangs beitragen können. Auch hier wird in Übereinstimmung mit Janssen und vielen anderen Autoren die Ansicht vertreten, dass eine primär ganzheitliche Erfassung aller makroskopischen und

mikroskopischen Befunde (an Täter, Waffe, Kleidern und Opfer) anzustreben ist, um am Ende ein möglichst genaues Bild von einer Tat zu erhalten (Janssen 1977, Pollak 1982, Sitiene et al. 2004).

2 Material

2.1 Organe

Die für die Schussversuche verwendeten Herzen, Lebern sowie die verwendete Haut waren ausschließlich tierischen Ursprungs. Sie stammten von Schweinen, welche ohnehin im Schlachthof in Göppingen geschlachtet worden sind. Die Organe (insb. die Lebern) waren ursprünglich für den Verzehr bestimmt. Sie wurden uns vom Schlachthof explizit für unsere Versuche überlassen. Eines Votums der Tierschutzorganisation bedurfte es daher nicht.

Menschliche Kadaver (Leichen) oder Leichenteile wurden zu keinem Zeitpunkt für die hier beschriebenen Versuche herangezogen.

Die Ethikkommission der Universität Tübingen hat die geplanten Versuche im Vorfeld geprüft und genehmigt.

2.2 Material aus den Asservaten des Institutes

Für die im Rahmen der Färbungen mitgeführten Negativkontrollen wurden im Institut vorrätige Schnitte weiterer Organe (Milz, Niere, Lunge) verwendet. Alle diese Gewebeproben stammten ebenfalls von Schweinen. Menschliche Gewebe oder Gewebereste aus den Asservaten des Institutes wurden für die hier beschriebenen Versuche zu keinem Zeitpunkt verwendet.

2.3 Gelatine

Verwendet wurde herkömmliche Schweinegelatine der Firma Max Linnmann, Goethestr. 9, 40237 Düsseldorf. Sie ist erhältlich über das Internet in 1 kg Industriepackungen (Linnmann 2007).

Für die Versuche wurde der kristallklare Aspik des Typs "PIK-AS" der Qualität "Sonderklasse" (Typ A), hergestellt aus Schweineschwarten, verwendet. Seine Gallertfestigkeit beträgt laut Herstellerangaben 300 Bloom.

2.4 Labormaterialien

2.4.1 Geräte

- Brutschrank Fa. Memmert, 37 °C
- Brutschrank Fa. Memmert, 72 °C
- Kühlschrank Liebherr Premium (ca. 4 °C) mit integriertem Tiefkühlschrank
- Leitz Aristoplan Mikroskop mit JVC Digital Camera KY-F75U
- Mikrowelle
- pH-Meter
- Vortex

2.4.2 Weiteres Zubehör

- Feuchte Kammer
- Eppendorf Hütchen
- Glaspipette 50 ml
- Marienfeld HistoBond® Objektträger (adhäsiv) für Abstrichpräparate
- Messzylinder
- Objektträgerschalen
- Pasteurpipetten
- Pipettenspitzen (gelb, blau)
- Polizei Spurensicherungsband
- R. Langenbrinck Objektträger (geschnitten) für Polizei Spurensicherungsband
- Reagenzröhrchen 5 und 10 ml
- Reaktionsgefäße mit zugehörigen Ständern
- Spritzflasche 1000 ml mit Aqua dest.
- Sterile Wattestäbchen der Fa. Schmeiser (für Abstriche)
- Varipette 2 - 10 µl (Fa. Eppendorf)
- Varipette 50 - 250 µl (Fa. Eppendorf)
- Varipette 20 - 1000 µL (Fa. Hamilton)

2.4.3 Chemikalien und Reagenzien

(In alphabetischer Reihenfolge)

➤ **1 % BSA in TBS:**

(zum Verdünnen der AK)

Herstellung:

1 % Rinderserumalbumin in 99 % Tris-Puffer gelöst, im Kühlschrank gelagert

➤ **3 % BSA in TBS:**

Herstellung:

3 % Rinderserumalbumin in 97 % Tris-Puffer gelöst, im Kühlschrank gelagert

➤ **Biotin-Blocking System:**

(Gebrauchsfertig bezogen von der Fa. Dako)

Set bestehend aus:

- Avidin-Solution (0.001 % in PBS-Puffer)
- Biotin-Solution (0.001 % in PBS-Puffer)

➤ **DAB+:** (Chromogen), in Verbindung mit Streptavidin-HRP, Farbe braun
(DAB-Substrate-Chromogen System der Fa. Dako)

Set bestehend aus:

- *DAB+ Chromogen*
- *DAB+ Substrate Buffer*

Herstellung von 2 ml Chromogengemisch:

2 Tropfen DAB+ Chromogen in Eppendorf Hütchen geben und mit 2 ml DAB+ Substrate Buffer mischen. Lösung vor Anwendung für 2 min. reagieren lassen.

➤ **Dualblock:**

(Gebrauchsfertig bezogen von der Fa. Dako)

Genaue Bezeichnung:

Dual Endogenous Enzyme Block

Verwendungszweck:

Blockt endogene Peroxidase (mit H₂O₂) und alkalische Phosphatase (mit Levamisol)

Achtung: Dualblock ist bei ca. 4 °C im Kühlschrank zu lagern.

➤ **Fuchsin:** (Chromogen), in Verbindung mit Streptavidin-AP, Farbe rot

(Fuchsin-Substrate-Chromogen System der Fa. Dako)

Set bestehend aus:

- *Fuchsin+ Chromogen*
- *Aktivierlösung*
- *Fuchsin+ Substrate Buffer*

Herstellung 2 ml Chromogenlösung:

3 Tropfen Fuchsin+ in mitgeliefertes Mischbehältnis geben und 3 Tropfen Aktivierlösung hinzugeben. Lösung kurz mischen und 2 min. reagieren lassen. Danach Gemisch mit Substrate Buffer auf 2 ml auffüllen. Es entsteht eine gelblich klare Lösung.

Achtung: Chromogen erst kurz vor der Verwendung herstellen, da nur 30 min. haltbar.

- **Hämatoxylin:** (Syn.: *Mayers Hämalaun*)
(*Gebrauchsfertig bezogen von der Fa. AppliChem*)

Verwendungszweck:

Hämatoxylin wird zur Gegenfärbung der Präparate verwendet (färbt Zell- und Gewebestrukturen, wie z. B. Zellkerne, Mitochondrien, Myelin, Elastin und Kollagenfasern). Zellkerne erscheinen blauschwarz, alle anderen Strukturen blau.

- **Kaisers Glyceringelatine:**
(*eigene Herstellung*)

zum Eindeckeln der Präparate, gelagert bei 37 °C im Brutschrank

Inhaltsstoffe:

- 10 g Gelatine Gold 180 Bloom (Fa. Roth)
- 70 ml Glycerin (60,1 g verdünnt mit Aqua dest. auf 70 ml)
- 0,1 g Phenol
- Aqua dest.

Herstellung:

Gelatine Gold in 60 ml Aqua dest. lösen. Danach 70 ml Glycerinlösung hinzugeben. Zu 100 g dieser Mischung 0,1 g Phenol hinzugeben und unter Erwärmung rühren, bis die Lösung klar geworden ist. Anschließend kann die fertige Gelatine heiß abfiltriert werden und im Brutschrank bei 37 °C gelagert werden.

- **PBS-Puffer** (pH 7,2): zum Lösen der Zellen im Abstrichverfahren
(*eigene Herstellung*)

Inhaltsstoffe für 1 l Stammlösung:

- 1,44g Na²HPO₄ (Dinatriumhydrogenphosphat)
- 0,24g KH₂PO₄ (Kaliumdihydrogenphosphat)
- 8g NaCl (Natriumchlorid)
- 0,2g KCl (Kaliumchlorid)
- 1 N NaOH (Natronlauge)
- Aqua dest. zum Verdünnen

Herstellung der Stammlösung:

Zuerst das Dinatriumhydrogenphosphat und das Kaliumdihydrogenphosphat in 1000 ml Aqua dest. lösen. Dann das Natriumchlorid und das KCl hinzugeben. Anschließend den pH-Wert mit 1 N Natronlauge (NaOH) auf 7,2 einstellen.

Herstellung der Gebrauchslösung:

50ml PBS-Stammlösung mit 950ml Aqua dest. Verdünnen.

Achtung: Gebrauchslösung bei ca. 4 °C im Kühlschrank aufbewahren.

- **Streptavidin-AP** (Fa. Dako) in Verbindung mit **Fuchsin** als Chromogen zur Sichtbarmachung der entstandenen AG-AK Komplexe (Hepatozyten in Lebergewebe erscheinen rot)
- **Streptavidin-HRP** (Fa. Dako) in Verbindung mit **DAB+** (Diaminobenzidin) als Chromogen zur Sichtbarmachung der entstandenen AG-AK Komplexe (Kardiomyozyten in Herzgewebe erscheinen braun)

- **TBS-Puffer** (0,05 M) pH 7,6: (Syn.: Tris-Puffer)
(eigene Herstellung)

Inhaltsstoffe:

- 500ml 1 M Tris-HCl Lösung
- 87g NaCl (Natriumchlorid)
- Aqua dest. zum Verdünnen

Herstellung der Stammlösung (0,5 M):

NaCl in 500 ml 1 M Tris-HCl Lösung lösen und mit HCl pH-Wert auf 7,6 einstellen. Anschließend mit Aqua dest. auf 1000 ml auffüllen. Nach erneuter Prüfung des pH-Wertes Lösung in Lagerungsbehälter abfüllen.

Herstellung der Gebrauchslösung:

0,5 M Stammlösung 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung (76,5 g NaCl in 9 l H₂O = 0,85%ige NaCl-Lösung) verdünnen. Danach nochmals pH-Wert überprüfen und ggf. auf 7,6 einstellen. Die Gebrauchslösung (0,05 M) wird im Kühlschrank gelagert und sollte binnen 48 h verwendet werden.

- **TBST-Puffer (0,05%ig):**
(eigene Herstellung)

Inhaltsstoffe für 2 l Konzentrat:

- 12,2 g Tris-Base
- 74 ml 1 N HCl
- 153 g NaCl (Natriumchlorid)
- 10 ml Tween 20
- Aqua dest. zum Verdünnen

Herstellung Konzentrat

Tris-Base, NaCl und Tween 20 in 2 l bidestilliertem Aqua dest. lösen.
Anschließend den pH-Wert mit HCl auf 7,6 einstellen.

Herstellung Gebrauchslösung:

Konzentrat 1:10 mit Aqua dest. verdünnen und anschließend gebrauchsfertige Lösung bei ca. 4 °C im Kühlschrank lagern.

2.4.4 Verwendete Antikörper

- Monoclonal Mouse-Anti-Human-Hepatocyt
Clone OCH1E5.2.10 Ig G1 kappa (Fa. Dako)

- Monoclonal Mouse-Anti-Cardiac-Troponin I
Ig G1 [2D5] (Fa. Dako)

- Kaninchen-Anti-Mouse biotinyliert (Fa. Dako)

- Mouse Ig G1 für Auslasskontrollen (Fa. Dako)

2.5 Verwendete Schusswaffen

Für den Beschuss der Organe bzw. der Gelatineblöcke wurden folgende Pistolen des Kalibers 9 mm Para / Luger verwendet:

- ❖ Sig Sauer P 226 in Alljagd-Ausführung
- ❖ Walther P 5

2.6 Geschosse

Alle in dieser Arbeit verwendeten Geschosse gehören dem gängigen Kaliber 9 mm Para / Luger (9 x 19 mm) an, welches aus Kurzwaffen (in der Regel Pistolen) verschossen wird. Im Laufe der Versuche wurden insgesamt drei verschiedene Geschosstypen dieses Kalibers verwendet, wobei der Fokus dieser Arbeit auf die QD-PEP Geschosse der Fa. MEN gelegt wurde.

Die anderen Geschosstypen (VMG und HSG) wurden nur exemplarisch herangezogen um zu zeigen, dass sich die an den PEP-Geschossen gemachten Beobachtungen durchaus auch auf andere Geschosstypen übertragen lassen. Alle der genannten Projektile sind Teil moderner Patronen. Eine typische moderne Patrone (s. Abbildung 1) hat folgende charakteristische Bestandteile:

1. Das **Geschoss (Syn. Kugel / Projektil)**, welches durch die Treibladung beschleunigt wird;
2. Die Patronenhülse, die alle Teile zusammenhält;
3. Das Treibmittel, zum Beispiel Schießpulver oder Kordit;
4. Die Ausziehrille, die als Teil der Patronenhülse zum Entladen benötigt wird;
5. Das Zündhütchen, welches das Treibmittel entzündet.

Von all diesen Teilen wird nur das Geschöß (Nr. 1) gezielt beschleunigt und ist für die eigentliche Wirkung und Gefährlichkeit einer Waffe verantwortlich. Genau dieser Teil der Patrone ist auch Gegenstand der in dieser Arbeit gemachten Untersuchungen.

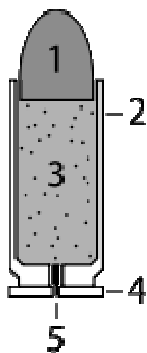
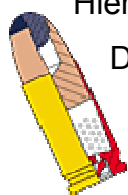


Abbildung 1 – Aufbau einer Patrone

Im Folgenden werden die verwendeten Geschossarten, insbesondere die hauptsächlich verwendeten PEP-Geschosse, hinsichtlich ihrer charakteristischen ballistischen Eigenschaften näher beleuchtet.

2.6.1 QD-PEP Geschosse der Fa. MEN (PEP)



QD-PEP

Hierbei handelt es sich um speziell für den Polizeieinsatz entwickelte Deformationsgeschosse, welche aufgrund ihres Verwendungszwecks auch als mannstoppende Munition bezeichnet werden. Ihre Bezeichnung (QD-PEP) steht für **Quick Defense Polizei-Einsatz-Patrone**, im Folgenden nur noch kurz PEP genannt. Das PEP-Geschoss zeigt aufgrund seines Aufbaus (s. Abbildung 2) ein völlig anderes Energieabgabeverhalten im Körper als beispielsweise Vollmantelgeschosse (VMG), welche z. B. aus für den Kriegsdienst bestimmten Pistolen der Bundeswehr verschossen werden. Das 5,9 g schwere Deformationsgeschoss aus Tombak (CuZn_5) hat an der Geschossspitze eine 5,3 mm große, 8 mm tiefe Öffnung, welche durch ein Hartplastikkügelchen mit einem Durchmesser von 5,6 mm verschlossen ist. Beim Eindringen in ein

Zielmedium wird das Kugelchen in den dahinter liegenden Hohlraum hineingedrückt und gibt so die für die Deformation (Aufpilzen) relevante Öffnung an der Geschossspitze frei. Das PEP-Geschoss steht damit aufgrund seiner speziellen ballistischen Eigenschaften zwischen Rundkopf-Vollmantelgeschossen und Hohlspitzgeschossen (Stein et al. 2006).

Unter Mannstoppwirkung versteht man eine solche Wirkung einer Waffe, die den Betroffenen sofort handlungsunfähig machen soll. Dies wird bei den PEP-Geschossen durch ihr Verhalten hinsichtlich ihrer Verformung und der damit verbundenen Energieabgabe im Zielkörper erreicht. Dabei wurden die Geschosse so konzipiert, dass sie möglichst 80 - 100 % ihrer Auftreffenergie im Ziel abgeben, um bei der getroffenen Person eine maximale Wirkung zu erzielen und die Wahrscheinlichkeit eines Durchschusses und der damit verbundenen möglichen Gefährdung weiterer Personen hinter der Zielperson zu minimieren (Damm 1996). Gerade dies war bei den in der Vergangenheit im Polizeidienst verwendeten Vollmantel-Geschossen ein großes Problem (Lüer 1999, Baller 2000).

Auch ihre Verwendung in Flugzeugen ist möglich, da die verbleibende kinetische Energie von PEP-Geschossen nach einem Durchschuss (max. 20 %) in aller Regel nicht ausreicht um eine Bordwand noch zu durchschlagen und damit die Sicherheit an Bord weiter zu gefährden. Die Eindringtiefe in Gelatine soll laut Herstellerangaben mindestens 20 cm und höchstens 30 cm betragen (s. Datenblatt der Fa. MEN im Anhang, S. 88).

Charakteristisch für PEP-Geschosse sind eine kontrollierte Deformation (durch Aufpilzung des Projektils von 9 auf max. 15 mm Durchmesser, sowie die Stabilität des Verformungsgeschosses, die eine Fragmentierung (Zerlegung in Einzelteile wie z. B. Splitter) im Zielkörper bewusst verhindern soll. Verwendung finden diese und ähnliche Patronen wie die Action 1 von Dynamit Nobel bereits seit den 80er Jahren in der Terrorismus- und Verbrechensbekämpfung bei den Spezialeinheiten SEK und MEK der deutschen Polizei (Scholzen 2000). Sie werden hier auch bei Geiselnahmen für einen finalen Rettungsschuss eingesetzt. Für den normalen Polizeidienst wurde die PEP dann als erste Patrone mit Deformationsgeschoss am 29.9.1999 in Rheinland-Pfalz durch den

Minister Walter Zuber eingeführt, nachdem die bis dahin in allen Ländern verwendeten Vollmantelgeschosse sich hierfür als „nur bedingt geeignet“ erwiesen hatten. Die übrigen Bundesländer folgten diesem Vorbild innerhalb weniger Monate.

Da die PEP speziell für den Einsatz im Polizeidienst konzipiert wurde, musste sie einer ganzen Reihe von Forderungen genügen, wie sie bspw. in der Technischen Richtlinie der Polizei NRW genau spezifiziert und am 11.6.1999 durch einen Beschluss der Innenministerkonferenz festgelegt worden sind (Langer 2004). Davon seien hier nachfolgend einige exemplarisch genannt:

- Geringe Gefährdung Unbeteiligter
- Geringe Abprallergefahr
- Große Energieabgabe auf Weichziele zur Erzeugung der Angriffs- und Fluchtunfähigkeit
- Keine Splitterbildung
- Ausreichende Wirkung beim Beschuss von Hartzielen und Fahrzeugreifen

(Scholzen 2000, Stein et al. 2006)

2.6.2 Hohlschulzgeschosse (HSG)

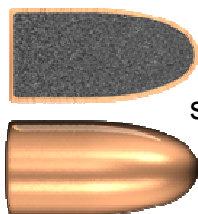


Zusätzlich zu den PEP-Geschossen wurde noch ein weiteres Deformations-Geschoss in die Versuche mit einbezogen: Das Hohlschulz-Geschoss (engl. Hollow point, s. Abbildung 3). Hierbei handelt es sich um ein in der Jagd häufig für Fangschüsse verwendetes Projektil, welches aber aufgrund seiner guten ballistischen Eigenschaften und seiner geringen Durchschlagskraft auch sehr gerne von Sportschützen verwendet wird, weil es eine hohe Präzision besitzt und die Wahrscheinlichkeit von Querschlägern durch die effiziente Energieabgabe im Ziel minimiert wird. HSG werden sowohl aus Lang- als auch aus Kurzwaffen verschossen.

Charakteristisch für sie ist ihr deutlich stärkeres Deformationsverhalten im Vergleich zu bspw. PEP-Geschossen. Sie können sich beim Treffen von harten Gegenständen wie z. B. Knochen komplett in einzelne Splitter fragmentieren. Daher zählen sie zur Gruppe der Zerlegungsgeschosse. HSG geben ihre Energie optimal an das umliegende Gewebe des Zielkörpers ab. Dennoch sind Durchschüsse bei dieser Projektilart keine Seltenheit.

Auffälliges Merkmal dieser Geschossart ist, dass die Geschossspitze ausgehöhlt ist. In der Regel bedeckt der Mantel die Innenseite der Geschossspitze nicht mehr, sodass der Bleikern dort frei liegt. Dies führt zu einer schnellen Deformation des Geschosses schon bei geringen Eindringtiefen. HSG zeichnen sich daher durch eine hohe Energieabgabe bereits bei geringer Penetrationstiefe aus und sind deshalb in ihrer Eindringtiefe recht eingeschränkt.

2.6.3 Vollmantelgeschosse (VMG)



Bei Vollmantelgeschossen (Engl. Full Metal Jacket) handelt es sich um Projektile, welche sich durch ihre besondere Stabilität auszeichnen. Diese wird dadurch erreicht, dass der Bleikern des Geschosses (in Abbildung 4 schwarz dargestellt) von einem

Abbildung 4 Kupfer- oder Messingmantel umgeben ist. Dieser Mantel verhindert sowohl das Zersplittern als auch die Verformung des Bleikerns nach dem Auftreffen auf ein weiches Ziel. Darüber hinaus sorgt er für eine stabilere Flugbahn sowie einen verbesserten Schutz des Laufes vor Abrieb durch das weichere und damit abriebsstärkere Blei. Auch das Treffen eines härteren Zieles wie z. B. Knochen führt in der Regel nicht zu starken Verformungen des Geschosses. VMG werden bis zu einem Kaliber von 20 mm verschossen. Die hier exemplarisch verwendeten Vollmantelgeschosse des Kalibers 9 x 19 mm Luger mit Rundkopf der Fa. Ruag Ammotec mit einem Geschossgewicht von 8,0 g erzeugen aufgrund der oben genannten Eigenschaften meist einen recht glatten Schusskanal und führen aufgrund ihrer geringen Energieabgabe im Zielkörper in der Regel zu Durchschüssen,

einhergehend mit charakteristischem Einschussloch, schmalen Schusskanälen ohne Kavernenbildung und einer Ausschussöffnung (Wirth & Strauch 2000). VMG geben je nach Quelle nur zwischen 20 und 56 Prozent ihrer Energie auf ein Weichziel (z. B. eine getroffene Person) ab und sind daher durchaus in der Lage Gelatineblöcke von einem Meter und mehr zu durchschlagen (Baller 2000). Selbst wenn man den günstigsten Fall, nämlich 56 % Energieabsorption im Primärziel, zugrunde legt, so reichen die restlichen 44 % (in unserem Fall immerhin $0,44 * 518 \text{ J} = 228 \text{ J}$, s. Datenblatt der Fa. Ruag Ammotec im Anhang) dennoch aus um noch weitere Personen hinter dem eigentlichen Ziel tödlich zu verletzen.

Aufgrund dieser hohen Durchschlagskraft und ihrer Übereinstimmung mit der Haager Landkriegsordnung werden diese Geschosse für den militärischen Gebrauch bevorzugt verwendet (z. B. in den Sturmgewehren der NATO (Kal. 5,56 mm) und der GUS (Kal. 5,45 mm)). Im Polizeidienst werden diese Geschosse nicht mehr eingesetzt, da sie sich hier aufgrund ihrer mangelnden Mannstoppwirkung und der erheblichen Gefährdung unbeteiligter Dritter durch Querschläger oder Durchschüsse als ungeeignet erwiesen haben (Dicke 1999). Dennoch haben VMG noch eine erhebliche Bedeutung im kriminalistischen Alltag, da sie nicht nur beim Militär, sondern gerade auch bei illegalen Waffen sehr weit verbreitet sind. Ebenfalls werden VMG in nahezu sämtlichen gängigen Jagdkalibern hergestellt und aufgrund ihrer guten Tiefenwirkung und der geringen Wildbretzerstörung häufig für die Großwildjagd verwendet (Klups 2003).

3 Methodik

3.1 Versuchsplanung und Durchführung

Bezüglich des experimentellen Designs wurde bei den Versuchen auf eine schrittweise Vorgehensweise zurückgegriffen. Dabei sollte der Versuchsaufbau in zunehmender Weise realitätsnah gestaltet werden. Etwaige Einflussfaktoren, die für das Endergebnis relevant sein könnten (wie z. B. Abstreifeffekt der Haut), sollten möglichst realistisch simuliert werden.

Nachdem entsprechend Kapitel 3.4.3 die Spezifität der Färbemethoden für Schweineorgane nachgewiesen worden war, konnten nun die ersten Schussversuche durchgeführt werden.

In einem ersten Schritt wurde nun zunächst auf dem Schießstand der LPD Tübingen rein auf die Organe geschossen. Dazu wurden die Herzen bzw. Lebern zunächst an einem Faden frei schwebend in der Luft aufgehängt. Anschließend wurden die Kugeln nacheinander aus einer Distanz von ca. zwei Metern durch die Organe geschossen und in einem hinter dem Organ aufgebauten Kugelfang, welcher mit Watte gefüllt war, aufgefangen. Ziel dieses Versuchsaufbaus war es zu prüfen, ob überhaupt Zellen auf den Projektilen zurückbleiben, die man später im Labor untersuchen kann. Ebenfalls sollte im Rahmen dieser Versuche geklärt werden, welches das beste Verfahren zur Gewinnung der Zellen ist: das Abstrichverfahren oder die Asservierung der Zellen mit Hilfe der Spurensicherungsfolie der Polizei (s. Abschnitt 3.3).

Nachdem diese Versuche erfolgreich durchgeführt worden waren und der Nachweis von Zellen durchweg bei allen Geschossen gelang, sollten die Versuche in einem nächsten Schritt noch realistischer gestaltet werden. Hierzu sollte das die Organe in vivo umgebende Gewebe möglichst genau nachgestellt werden. Realistischer wäre sicherlich der Beschuss einer menschlichen Leiche gewesen, aber dies verbot sich aus ethischen Gründen. Dennoch sollten die Versuchsbedingungen möglichst realistisch sein. Deshalb wurden die Organe für die nachfolgenden Versuche in hoch konzentrierte Gelatineblöcke gegossen, die dann auf ca. 4 °C heruntergekühlt wurden.

Gelatine ist das ballistische Zielmedium, welches dem Dichteverhältnis von Muskelgewebe am besten entspricht. Genau aus diesem Grund wird dieses Material standardmäßig in der Erprobung und Entwicklung von Geschossen eingesetzt. Wissenschaftler können die Wirkung im menschlichen Körper so optimal simulieren, ohne dabei auf tierische Kadaver oder menschliche Leichen zurückgreifen zu müssen. Die durchgeführten Testschüsse geben ebenfalls Auskunft über das Energieabgabeverhalten eines Geschosses in vivo. Der in der Gelatine ohne Weiteres nachzuvollziehende Risslängenverlauf lässt exakte Rückschlüsse auf die Energieabgabe im Zielkörper zu. Ferner kann man die Gelatineblöcke bei ausreichender Länge auch hervorragend als Kugelfang verwenden. Auf dieses Verfahren wurde auch in den nachfolgenden Versuchen zurückgegriffen. Hauptvorteil war, dass die Kugeln nicht mit Watte verunreinigt wurden, welche sich bei den ersten Schussversuchen teilweise an den Zellen auf den Geschossen festsetzte und dann die weitere Verarbeitung der Zellen im Labor erschwerte. Ein weiterer Vorteil des Beschusses von Gelatineblöcken war, dass sich der Schusskanal exakt nachvollziehen ließ und man so ohne Weiteres sicher sagen konnte, ob das betreffende in den Block gegossene Organ auch wirklich getroffen wurde (s. Abbildung 17 und Abbildung 18 im Anhang). Nach dem Beschuss wurden die Gelatineblöcke in das Institut für Rechtsmedizin der Universität Tübingen transportiert, wo die Geschosse schonend entfernt wurden.

Nachdem auch in diesem Verfahren auf allen Geschossen erfolgreich die gesuchten Zellen nachgewiesen werden konnten, wurden die Organe in einem letzten Schritt zusätzlich mit Schweinehaut umwickelt, bevor sie in die Gelatineblöcke gegossen wurden. Hierdurch sollte der Abstreifeffekt der Haut bestmöglich simuliert werden. Dabei befand sich Haut sowohl vor als auch hinter dem Organ, sodass die Kugel erst die Haut durchstoßen musste, dann Gelatine und Organe penetrierte um schließlich wieder durch die Haut auszutreten, ganz so wie bei einem realen Durchschuss. Auch hier wurden die Geschosse in der Gelatine aufgefangen.

Parallel wurden bei den letztgenannten Versuchen auch Herzen und Lebern in Blöcke hintereinander gegossen. Ziel war es hierbei mit einer Kugel beide

Organe zu treffen. Anschließend sollte im Rahmen einer Doppelfärbung der Versuch unternommen werden, beide Gewebearten nebeneinander immunzytologisch nachweisen zu können. Schließlich ist es in der Praxis durchaus möglich, dass eine Kugel gleich mehrere Organe durchschlägt. Dies gilt insbesondere dann, wenn sie von einem Knochen oder anderen Strukturen von ihrer eigentlichen Flugbahn abgelenkt wird.

Alle Schussversuche wurden unter standardisierten Bedingungen und mit einer Schussentfernung von ca. zwei Metern durchgeführt.

Am Ende stand die Auswertung aller Ergebnisse, um die Zuverlässigkeit des untersuchten Verfahrens statistisch nachweisen zu können.

Den mitwirkenden Beamten der Landespolizeidirektion in Tübingen sei an dieser Stelle nochmals für ihre tatkräftige Unterstützung bei dieser Arbeit gedankt, ohne die Versuche in diesem Rahmen wohl nicht möglich gewesen wären.

3.2 Herstellung der Gelatineblöcke

Gelatine ist das Medium, welches standardmäßig für die Simulation von weichen Körpern bei Schussversuchen zur Untersuchung des Verhaltens und der Energieabgabe eines Geschosses bei ballistischen Untersuchungen eingesetzt wird. Allerdings findet sich in der Literatur eine Vielzahl unterschiedlicher Rezepturen zur Herstellung einer Gelatine mit „optimaler Konsistenz“ zur Simulation menschlichen oder tierischen Gewebes (Fackler & Malinowski 1988). Dabei wird zum Teil auf spezielles Ballistik-Gel (gelegentlich auch „ballistische Gelatine“ genannt) zurückgegriffen, teilweise wird aber auch einfache, hochkonzentrierte Speisegelatine (Aspik) verwendet. Dabei unterscheiden sich die unterschiedlichen Gelatinearten nicht nur durch ihre Herkunft (Schwein, Rind, etc.), sondern vor allem auch durch ihre Gallertfestigkeit, welche in Bloom gemessen wird. Die Bloomwerte von Gelatine schwanken je nach Hersteller zwischen 50 und 300 Bloom, wobei die Gelierfestigkeit umso höher wird, je höher der Bloomwert ist. Der Versuch einer Standardisierung für Schussversuche wurde unter anderem von Fackler und

Malinowski mit dem sog. Fackler-Schema unternommen, laut Schyma & Schyma einem internationalen Standard, der es Traumatologen in aller Welt ermöglichen soll, ihre Ergebnisse direkt miteinander zu vergleichen (Fackler & Malinowski 1988, Schyma & Schyma 1999). Dieser Mischung sei allerdings kritisch entgegengestellt, dass sie sich in unseren Versuchen als zu weich erwiesen hat und deshalb der hier vertretenen Ansicht nach nicht annähernd der Konsistenz von Muskelgewebe entspricht. Deshalb wird durchaus häufig auf höher konzentrierte Gelatinelösungen zurückgegriffen. So ist z. B. für die Prüfung von polizeilicher Munition des Kalibers 9 x 19 mm die Verwendung eines ganz bestimmten Mischungsverhältnisses von spezieller ballistischer Gelatine der Firma Deutsche Gelatinefabriken Stoess & Co GmbH, Gammelsbacherstr. 2, 69412 Eberbach, der Qualität „Platin Super“ vorgeschrieben (Polizeiführungsakademie 2001).

In unserem Fall entschieden wir uns für die Verwendung von Speisegelatine der Firma Max Linnmann. Es handelte sich hierbei um den in ein Kilogramm Industriepackungen erhältlichen kristallklaren Aspik des Typs "PIK-AS" der Qualität "Sonderklasse" (Typ A), hergestellt aus Schweineschwarten, welcher laut Herstellerangaben eine Gallertfestigkeit von 300 Bloom aufweist. Da diese Gelatine einen deutlich höheren Bloomwert aufweist, als die oben genannte ballistische Gelatine, braucht sie auch nicht so hoch konzentriert zu werden. Wir rechneten daher im Vorfeld mit einer optimalen Konzentration von 10 - 15 Gew.-% Aspikpulver in Wasser.

Um das optimale Mischungsverhältnis für unsere Versuche bestimmen zu können, wurden zunächst Testblöcke unterschiedlicher Konzentrationen gegossen, welche dann auf ihre Festigkeit und Konsistenz hin untersucht wurden. (Testreihe mit 900 g, 1000g, 1200g, 1500 g und 2000 g jeweils gelöst in entsprechenden Wassermengen zu einer Gesamtmasse von 11 kg), sodass Mischungsverhältnisse von (Gelatinemasse : Gesamtmasse) 0,9:11, 1:11, 1,2:11, 1,5:11 und 2:11 zustande kamen. Die Gelatine wurde hierzu als lauwarmer Lösung bei maximal 40 °C im Wasserbad gelöst. Anschließend wurden die Blöcke weitgehend analog dem Fackler-Schema auf eine Temperatur von ca. 4 °C heruntergekühlt.

Dabei erwies sich ein Verhältnis von 1,5:11 (1500 g Aspik auf 9500 g Wasser) als optimal, also eine 13,6%ige Lösung. Dies entsprach ziemlich genau unseren zuvor genannten Erwartungen. Bei der 2:11 Mischung löste sich das Aspikpulver nicht mehr vollständig im Wasser und der resultierende Gelatineblock war schon zu brüchig. Der Block mit dem 1,5:11 Mischungsverhältnis dagegen war von fester Konsistenz, guter Belastbarkeit, nicht brüchig und bei einem Testbeschuss mit PEP-Geschossen wurden 40 cm lange Blöcke nicht durchschlagen. Somit waren Blöcke dieser Konsistenz als Kugelfang geeignet. Daher wurde diese Konzentration für alle Blöcke bei den nachfolgenden Versuchen verwendet.

3.3 Verfahren zur Gewinnung der Zellen

Zur Gewinnung der Zellen im Labor und ihrer weiteren Verarbeitung wurden im Laufe der Versuche verschiedene Verfahren getestet, wovon sich das Abstrichverfahren aufgrund der guten Ergebnisse und der geringsten Verunreinigung bei den Endergebnissen als beste Methode herausstellte.



Abbildung 5 – Folie

Zum einen wurde versucht die Zellen mit der **Spurensicherungsfolie der Polizei** von den Geschossen abzulösen und diese dann mit Doppelklebefolie auf Objektträger zu bringen, dort trocknen zu lassen und im Anschluss daran diese zu färben (s. Abbildung 5). Vor der Färbung sollte der Bereich der Folie, auf dem die Zellen vermutet werden, mit einem Dako-Pen® umrahmt werden, damit ein reibungsloser Färbungsvorgang gewährleistet werden kann. Andernfalls besteht die Gefahr, dass die aufgetragenen Reagenzien nicht ausreichend auf die Zellen einwirken können, weil sie vom Objektträger herunterfließen.



Abbildung 6 – Abstrich

Als zweite Variante wurden die Zellen versuchsweise mit einem **Abstrichverfahren** gewonnen. Hierzu wurden die Geschosse mit einem Tupfer, welcher zuvor in 200 µl PBS-Puffer getränkt worden war, abgestreift (s. Abbildung 6) und dann in einer Pufferlösung gelöst. Die in dieser Emulsion gelösten Zellen konnten anschließend mit einer Pipette aufgesaugt und auf einen Objektträger gebracht werden. Als kleine Variation hiervon ist es ebenfalls möglich, die Kugel oder Teile von ihr einfach in einer PBS - Pufferlösung zu baden, abzuwaschen und die dann in diesem Medium gelösten Zellen wiederum mit einer Pipette auf einen adhäsiven Objektträger zu übertragen und dort eintrocknen zu lassen. Es empfiehlt sich hierbei den Teil des Objektträgers, auf dem die Zellen später zu sehen sein sollen, im Vorfeld mit einem Dako-Pen® zu umrahmen, um ein Herunterfließen des Zellmaterials vom Objektträger zu verhindern.

Im Abstrichverfahren besteht die Möglichkeit, die in dem Medium gelösten Zellen auf einen kleinen Bereich des Objektträgers zu konzentrieren, was die Auswertung im Nachhinein erheblich erleichtern kann. Den Trocknungsvorgang kann man durch Inkubation der Objektträger bei 72 °C im Brutschrank erheblich beschleunigen, ohne dass dabei das spätere Ergebnis der Färbungen in Mitleidenschaft gezogen wird. Im Anschluss daran wurden die nun auf den Objektträgern fest haftenden Zellen gefärbt.

3.4 Histologie und Immunhistochemie

3.4.1 Zytologie und Histologie

Die Histologie ist ein Teilgebiet der Medizin bzw. der Biologie, welche auf mikroskopischer Ebene menschliche, tierische und pflanzliche Gewebe untersucht. Man könnte sie auch als die Lehre von biologischen Geweben und der Art, in der die einzelnen Bestandteile strukturell und funktionell miteinander verbunden sind bezeichnen (Stevens & Lowe 1992). In der Histologie werden mikrometerdünne Schnitte von Geweben hergestellt, auf adhäsive Objektträger gebracht und die auf dem Objektträger haftenden Gewebeverbände im

Anschluss gefärbt. In der Zytologie wird Analoges mit einzelnen Zellen gemacht, welche z. B. durch Abstriche gewonnen wurden (Bsp: PAP-Abstriche in der Gynäkologie). Die Zytologie stellt also die Lehre von der Zelle, ihrem Aufbau sowie ihrer einzelnen Kompartimente und Organellen dar.

Färbungen dienen dazu bestimmte Strukturen wie bspw. Zellkerne, Zellorganellen oder durch immunhistochemischen Verfahren bestimmte Antigene sichtbar zu machen und darzustellen. Deshalb werden je nach Untersuchungsziel in der Praxis eine ganze Reihe unterschiedlicher Färbungen angewandt, abhängig davon welche Strukturen mit der entsprechenden Färbung sichtbar gemacht werden sollen und welche nicht.

Im Anschluss an die Färbungen werden die angefärbten Zellen bzw. Zellverbände dann unter dem Mikroskop näher betrachtet.

3.4.2 Immunhistochemie / Immunzytochemie

Die Immunhistochemie ist eines der bedeutendsten und modernsten Verfahren in der modernen Histopathologie. Durch immunhistochemische Verfahren ist es möglich, die Verteilung bestimmter Antigene auf oder in Zellen am histologischen Schnitt oder an zytologischen Materialien (dann auch immunzytochemisches Verfahren genannt) auf Objektträgern hochspezifisch sichtbar zu machen. Dabei macht man sich die spezifische Bindung von Antikörpern (AK) an die Epitope der betreffenden Antigene zu nutze. Antikörper sind in vivo von B-Zellen bzw. Plasmazellen als Reaktion auf das Eindringen von Antigenen gebildete Abwehrstoffe (Noll 2000).

Das Prinzip einer immunzytochemischen Untersuchung sei hier anhand eines Beispiels kurz erläutert:

Zu Beginn werden die zu untersuchenden Zellen oder Zellverbände zuerst auf Objektträger gezogen und für die Färbung aufbereitet (bspw. ist nach Formalin-Fixierung meist eine Demaskierung der gesuchten Antigene notwendig). Danach werden die zu untersuchenden Zellen eine bestimmte Zeit mit spezifischen „primären“ AK gegen die gesuchten Antigene inkubiert. Um diese nun an die Antigene gebundenen AK sichtbar zu machen, kann man entweder den primären AK im Vorfeld schon mit einem Farbstoff oder Enzym koppeln

(schnellere „direkte“ Methode), oder man verwendet einen sekundären, konjugierten („markierten“) Antikörper (Brücken-AK) gegen den Primären, welcher an einen Farbstoff oder an ein Enzym gekoppelt ist oder anderweitig in einem weiteren Schritt einen Farbstoff binden kann („indirekte“ Methode). Auf das indirekte Nachweisprinzip wurde auch bei den im Rahmen dieser Arbeit gemachten Färbungen zurückgegriffen. Je nach Färbung kann es noch notwendig sein eine Reihe von zusätzlichen Schritten z. B. zur Ausschaltung von Störeffekten und unspezifischen Nachweisen zusätzlich durchzuführen.

Bei indirekten immunzytochemischen Nachweisverfahren werden meist primäre AK tierischen Ursprungs (z. B. Maus-Ig G) verwendet, welche in einem zweiten Schritt durch markierte Standard-Sekundär-AK (z. B. Hase-Anti-Maus-Ig G) oder Brücken-AK in Verbindung mit weiteren Substraten sichtbar gemacht werden. Ein solcher Brücken-AK kann für alle spezifischen Primär-AK des betreffenden Tieres (in diesem Fall der Maus) verwendet werden, ganz gleich gegen welche Strukturen sich der Primär - AK richtet. Sekundär - AK sind oft kommerziell erhältlich und daher kostengünstiger.

Als AK finden in der Immunzytochemie Antiseren oder AK aus eben solchen Seren Verwendung, oder aber monoklonale AK, welche man durch die Züchtung von Hybridomazellen gewinnt.

Seren erhält man durch Immunisierung eines Tieres. Dabei wird das Tier dem Antigen ausgesetzt, welches daraufhin Immunglobuline gegen die applizierten Antigene produziert. Im einfachsten Fall kann ein solches Serum eine Blutprobe des Tieres mit den darin enthaltenen polyklonalen AK ohne die zellulären Bestandteile sein.

Monoklonale AK dagegen gewinnt man aus der Züchtung von Hybridomazellen. Das sind Zellen, die die Wachstumseigenschaften von Tumorzellen mit der Spezifität von AK bildenden Zellen (Plasmazellen) vereinen. Hierdurch gewinnt man nur die spezifischen AK, die eben diese Zellen produzieren. Solche monoklonale AK gegen spezifische Herz- bzw. Leberantigene aus Zellen tierischen Ursprungs (Maus) wurden auch in unseren Versuchen verwendet.

AK bleiben allerdings nicht nur auf den gesuchten Antigenen haften, sondern binden oft auch noch unspezifisch an Strukturen, die eigentlich nicht

nachgewiesen werden sollen. Dies liegt zum einen daran, dass der Schnitt eine gewisse Klebrigkeit aufweist, die die AK unselektiv an den Zellen haften lässt, zum anderen aber auch daran, dass selbst die monoklonalen AK oft auch noch an andere als die gesuchten Strukturen binden (z. B. bei einer Bindung von Proteinen der Zellen an den konstanten Teil der AK). Um auf diesem Wege keine falsch positiven Ergebnisse zu erhalten werden im Vorfeld solche Strukturen durch Reagenzien (z. B. Normalalbumin oder Seren von der Spezies, von der der Sekundär-AK stammt) „geblockt“.

Im Fall niedriger Konzentrationen der nachzuweisenden Antigene kann man den Versuch unternehmen, das Ergebnis durch den Einsatz von sogenannten „Verstärkern“ zu verbessern. Dies kann z. B. durch die Bindung gleich mehrerer Farbstoffkomplexe an den markierten Brücken-AK geschehen.

Für unsere Versuche wurde auf die LSAB-Methode zurückgegriffen, welche aufgrund ihrer zeitlichen Stabilität, ihrer hohen Sensitivität und ihrer Spezifität des Streptavidin-Konjugates häufig der ebenfalls weit verbreiteten ABC-Methode vorgezogen wird, obwohl sie nicht die Möglichkeit der Signalverstärkung nach dem zuvor geschilderten Prinzip bietet.

Bei der LSAB-Methode (**L**abeled-**S**trept-**A**vidin-**B**iotin Methode) macht man sich die Affinität von Avidin zu Biotin zunutze. Avidin ist ein 68 kDa Glykoprotein, welches vier Bindungsstellen für Biotin besitzt. Es wurde ursprünglich aus Hühnereiweiß gewonnen, aber aufgrund der teils unspezifischen Reaktionen dieses Proteins wurde es weitestgehend durch Streptavidin ersetzt, welches auf gentechnischem Weg aus Bakterien der Spezies *Streptococcus avidinii* gewonnen wird. Biotin ist ein wasserlösliches Protein, welches sich leicht kovalent an den Brücken-AK binden lässt und somit die Verbindung zum Streptavidin-Enzym-Komplex herstellen kann.

Im Einzelnen funktioniert die LSAB-Methode wie folgt:

Der spezifische Antikörper gegen das gesuchte Antigen wird durch einen mit Biotin konjugierten sekundären Antikörper lokalisiert. Auf diesen Schritt folgt die Hinzugabe eines Streptavidin-Enzym-Konjugates (hier: Streptavidin-HRP bzw. Streptavidin-AP), welches das am sekundären AK kovalent gebundene Biotin bindet. Die für die Färbung benötigten Enzyme (Alkalische Phosphatase (AP))

und Meerrettichperoxidase (HRP)) sind also (im Gegensatz zur ABC-Methode) direkt an das Streptavidin gekoppelt.

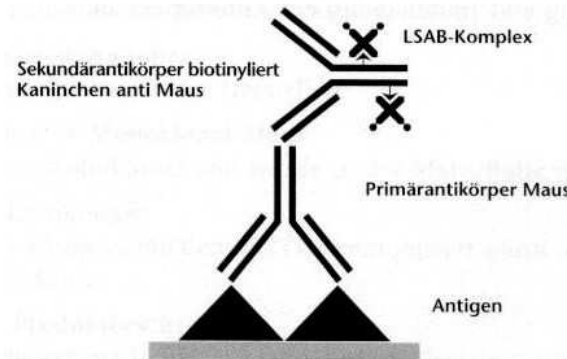


Abbildung 7 – Prinzip der LSAB-Methode (Noll 2000)

Der spezifische Antikörper, der sekundäre Antikörper und der Streptavidin-Enzym-Komplex werden dann in einem letzten Schritt mit einem geeigneten Substrat (Chromogen) farblich dargestellt (s. Abbildung 7). Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Chromogene sind DAB+ (braun) und Fuchsin (rot). Die LSAB-Methode ist derzeit eine der spezifischsten und durch seine Handhabung bevorzugten Methoden in der Immunhistochemie (Noll 2000).

3.4.3 Nachweis der Organspezifität der Färbungen

In Vorversuchen wurde im Institut bereits die Organspezifität der jeweiligen Färbungen anhand einer komplexen Versuchsreihe getestet. Dabei wurden die hier verwendeten immunzytochemischen Färbungen auf zahlreiche Gewebe sowohl menschlichen wie auch tierischen Ursprungs (Schwein) angewendet. Im Zuge dessen wurden verschiedene Organproben (Nieren-, Lungen-, Milz-, Skelettmuskel, Pankreas sowie Hirngewebe) als Negativkontrolle herangezogen. Es handelte sich hierbei um Paraffinschnitte aus den Asservaten des Institutes, welche normalerweise im Rahmen routinemäßiger Kontrollfärbungen verwendet werden. Zunächst wurden diese mit einer Xylol-Lösung und einer absteigenden Alkoholreihe entparaffiniert. Danach wurden die Antigene in der Mikrowelle demaskiert und die endogene Peroxidase Aktivität mit 3 % H_2O_2 in destilliertem Wasser geblockt. Die verwendeten Antikörper waren Anti-HepPar1 (Fa. Dako) zur spezifischen Färbung von Leberzellen,

sowie Anti-Troponin I zur spezifischen Färbung von Herzzellen. Es handelt sich bei den verwendeten Antikörpern um monoklonale Antikörper der Maus, welche in einer BSA Pufferlösung 1:200 verdünnt wurden. In beiden Fällen wurden die gebundenen Antikörper in einem zweiten Schritt durch eine Polymerlösung mit einem Sekundärantikörper sichtbar gemacht (Meerrettich Peroxidase Komplex gebunden an rabbit-anti-mouse Antikörper = DAKO EnVision System). Um die unspezifische Bindung von Antikörpern (AK) an Fc-Rezeptoren zu minimieren wurden die Gewebeprobe im Vorfeld mit einem gepufferten Ziegen Serum behandelt (Lösung: 1:100 in 3 % BSA Puffer). Im Anschluss wurden die entstandenen Antigen-Antikörper-Komplexe mit Diaminobenzidin sichtbar gemacht.

Tabelle 1 – Organspezifische Immunreaktion von Gewebe aus Mensch und Schwein nach Anfärbung mit dem Anti-HepPar1-Antikörper bzw. dem Anti-Troponin I-Antikörper (Wehner et al. 2007)

	Anti-HepPar1-AK		Anti-Troponin I-Antikörper	
	Mensch	Schwein	Mensch	Schwein
Leber	+	+	--	--
Herz	--	--	+	+
Niere	--	--	--	--
Milz	--	--	--	--
Lunge	--	--	--	--
Skelettmuskel	--	--	--	--
Pankreas	--	--	--	--
Gehirn	--	--	--	--

Durch die Färbungen an den Schweineorganen sollten mögliche gewebeunspezifische Kreuzreaktionen zwischen den verwendeten Antikörpern der Firma Dako und den Zellstrukturen tierischen Ursprungs ausgeschlossen werden, da diese Antikörper schließlich für die Färbung menschlichen Gewebes entwickelt und getestet wurden. In den Versuchen konnte zweifelsfrei gezeigt werden, dass die verwendeten Kits der Firma Dako nicht nur spezifisch für menschliches Gewebe sind, sondern auch für das Gewebe von Schweinen (s.

Tabelle 1). Die verwendeten Antikörper Anti-Troponin I und Anti-HepPar1 können demnach sowohl beim Menschen wie auch beim Schwein für die spezifische Markierung von Herz- bzw. Lebergewebe verwendet werden. Alle anderen Gewebe ließen sich durch die entsprechenden Färbungen nicht anfärben (Wehner et al. 2007).

3.5 Färbeprotokoll

Bei dem hier angewendeten Markierungsverfahren handelt es sich um die LSAB-Methode (s. Abschnitt 3.4.2). Da diese auf einem Streptavidin-Biotin-Detektionssystem beruht, ist aufgrund des hohen Gehalts an endogenem Biotin in den zu untersuchenden Geweben zunächst eine Streptavidin-/ Biotin-Blockierung durchgeführt worden. Anschließend wurden noch die Aktivitäten von endogener Peroxidase und alkalischer Phosphatase durch einen Dualblock der Firma Dako blockiert, da diese ebenfalls unspezifische Markierungen hervorrufen können. Außerdem wurden die Schnitte danach noch mit Rinderserumalbumin (3 % BSA in TBS) inkubiert, um unspezifische Bindungen an Fc-Rezeptoren zu reduzieren. Im Anschluss an diese Blockierungsschritte wurden die Schnitte mit den Primärantikörpern (1:200 verdünnt in BSA-Puffer) inkubiert. Zum Nachweis von Hepatozyten dienten Anti-HepPar1-Antikörper, für die Detektion von Kardiomyozyten wurden Antikörper gegen kardiales Troponin I verwendet. Die entstandenen Antigen-Antikörper-Komplexe wurden anschließend durch konjugierte Sekundärantikörper in Verbindung mit Chromogenen sichtbar gemacht. Die Wahl unterschiedlicher Streptavidin-Enzym-Konjugate (Streptavidin-HRP bzw. Streptavidin-AP) in Verbindung mit dazu passenden Chromogenen (DAB+ bzw. Fuchsin) machte auch in Doppelfärbungen eine eindeutige Unterscheidung von Herz- und Leberzellen möglich. Auf diese Weise erschienen Herzzellen braun und Leberzellen rot und ließen sich damit eindeutig differenzieren. In einem letzten Schritt wurden die Präparate noch mit Hämatoxylin für 2 Minuten gegengefärbt und anschließend für 7 Minuten unter fließendem Leitungswasser gebläut.

Die exakten Färbvorschriften sind in Kapitel 9.4 im Anhang abgedruckt.

3.6 Auswertung

3.6.1 Vorgehensweise

Im Allgemeinen wurden die Geschosse möglichst zeitnah nach dem Beschuss aus dem Kugelfang bzw. den Gelatineblöcken geborgen und zur weiteren Untersuchung im Labor jeweils einzeln in kleine Behältnisse verbracht. Im Labor wurden die Geschosse, die unmittelbar nach den Versuchen untersucht werden konnten, einzeln nacheinander hervorgeholt und im Abstrichverfahren bzw. mit der Spurensicherungsfolie auf biologische Gewebespuren untersucht. Die Geschosse, die nicht sofort bearbeitet werden konnten, wurden zur späteren Untersuchung bei ca. 4 °C in einem Kühlschrank gelagert, um einer eventuellen Zersetzung der nachzuweisenden Antigene vorzubeugen.

Sobald die vermuteten Zellen bzw. Zellreste auf Objektträger gebracht worden waren wurde mit den Färbungen begonnen. Im Anschluss an die Färbungen wurden die Ergebnisse zumeist binnen 24 Stunden unter dem Mikroskop ausgewertet. Dazu wurden zunächst die Positiv-/ Negativ- bzw. Auslasskontrollen auf ihre Korrektheit überprüft, denn nur wenn diese auch funktioniert hatten war eine Auswertung der Färbungen möglich. War dies der Fall wurden alle weiteren Präparate auf ihr Ergebnis hin überprüft. Als positiv wurde ein Präparat gewertet, wenn eindeutig rot angefärbte Leberzellen bzw. braun angefärbte Herzzellen auf den Objektträgern zu finden waren. Theoretisch hätte hierfür schon eine einzelne, eindeutig angefärbte Zelle mit passender Zellstruktur und Morphologie ausgereicht. Es waren aber in der Mehrzahl der Fälle ganze Ansammlungen von Zellen zu finden, die den jeweiligen Herkunftsorganen eindeutig zuzuordnen waren. Anschließend wurden die mit Nummern versehenen Objektträger in Präparatekästen archiviert.

Im Rahmen der Versuche wurden insgesamt 150 PEP-Geschosse abgefeuert, davon 70 auf Herzen, 70 auf Lebern sowie 10 durch beide Organe. Darüber hinaus wurden 10 HSG sowie 20 VMG verwendet.

In Kapitel 9.3 im Anhang sind die einzelnen Schritte der Versuchsauswertung noch einmal schematisch dargestellt.

3.6.2 Positiv- / Negativ- und Auslasskontrollen

Da in den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen spezifisch ganz bestimmte Gewebeanfärbungen nachgewiesen werden sollten, musste auch sichergestellt werden, dass die Färbungen ordnungsgemäß funktioniert haben. Hierzu wurden nicht nur im Vorfeld Versuche durchgeführt, die die Spezifität der Färbungen auch für Schweineorgane nachweisen sollten, sondern es waren noch weitere Maßnahmen erforderlich, um bei jeder einzelnen Färbung sicherzustellen, dass diese funktioniert hat. Unspezifische Anfärbungen können bei immunhistochemischen Verfahren gelegentlich vorkommen, ohne dass sich dabei die Gründe hierfür im Nachhinein immer klären lassen. Sie können aber nur dann entdeckt werden, wenn auch IMMER Negativkontrollen mitgefärbt werden. Auch falsch-negative Befunde sind möglich. Zum Ausschluss Letzterer benötigt man Positivkontrollen.

Als potentielle Gründe für fehlgeschlagene Färbeversuche seien hier exemplarisch eine Kontamination von Negativkontrollen mit dem anzufärbenden Antigen oder eine Verwechslung von Reagenzien genannt. Aber auch eine unzureichende Blockierung von gewebeeigenen Strukturen wie zum Beispiel der endogenen Peroxidase kann je nach Färbung zu falsch positiven Ergebnissen und unspezifischen Anfärbungen führen. Daher ist es zwingend notwendig bei JEDER Färbung parallel zumindest eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle mitzuführen. Die Gründe hierfür seien nachfolgend kurz erläutert:

„Eine immunhistochemische Färbung ist genau dann ‚richtig‘, wenn sie das gesuchte Antigen an allen Stellen seines Vorkommens anzeigt und überall dort negativ ausfällt, wo das gesuchte Antigen nicht vorhanden ist“ (Schleyer 1995). Um diesen Nachweis erbringen zu können bedient man sich in der Regel zumindest einer Positivkontrolle (z. B. Schnitte von Herz- bzw. Leber) und einer Negativ- / Auslasskontrolle (Noll 2000).

Die **Positivkontrolle** soll hierbei sicherstellen, dass die Antigendarstellung gelungen ist. Hierzu wird eine Probe mitgefärbt, bei der bekannt ist, dass das gesuchte Antigen auf jeden Fall vorhanden ist. Diese Positivkontrolle muss dementsprechend auch positiv anfärben, damit dieser Nachweis als erbracht

angesehen werden kann. In unserem Fall wurden hierfür histologische Schnitte von Lebern und Herzen vom Schwein herangezogen. Diese wurden auf einen Objektträger verbracht und anschließend gefärbt. So konnte für jede Färbung der Nachweis erbracht werden, dass die Antigen-Darstellung gelungen ist, wenn diese Positivkontrolle auch wirklich positiv ausfiel. Bei den Doppelfärbungen mussten Positivkontrollen beider beschossenen Organe (Herz und Leber) mitgeführt werden.

Negativkontrollen sollen dazu dienen falsch-positive Befunde auszuschließen. Hierbei werden Gewebeschnitte oder Zellen gefärbt, die bekanntermaßen nicht das nachzuweisende Antigen enthalten. Für die Negativkontrollen wurden im Institut vorrätige Schnitte anderer als der gesuchten Organe (z. B. Milz, Niere etc. vom Schwein) bei jedem Versuch mitgefärbt. Für den Nachweis der Spezifität des für die Färbung verwendeten Antikörpers mussten diese Negativkontrollen auch negativ ausfallen.

Zusätzlich wurden bei jeder Färbung noch **Auslasskontrollen** durchgeführt, welche in der Literatur häufig auch als Negativkontrollen bezeichnet werden (Schleyer 1995). Hierbei wird der für die Färbung verwendete Primär-AK entweder weggelassen oder durch einen „nicht passenden“ AK ersetzt. Auch hierbei darf das Zellmaterial im Anschluss keine Markierung aufweisen, sich also nicht anfärben. Für die Auslasskontrollen wurden direkte Abstriche aus den Organen gewonnen, allerdings wurde der Primär - AK ersetzt durch die hierfür eigens empfohlene Negativkontrolle der Fa. Dako, einem Maus Ig G Antikörper.

4 Ergebnisse

4.1 Nachweis von Kardiomyozyten an PEP-Geschossen

Im Falle der PEP-Geschosse trafen von insgesamt 70 abgefeuerten Geschossen 48 das Organ und waren somit auswertbar. Bei allen diesen 48 Geschossen gelang der spezifische Nachweis von Herzzellen. Die Erfolgsquote lag demnach bei 100 % (s. Tabelle 10 im Anhang). Die gesuchten Zellen waren in den meisten Fällen schon auf den ersten Blick zu erkennen (s. Abbildung 8), wenngleich ganze „Zellrasen“, wie sie zum Teil nach dem Beschuss von Lebern mit PEP-Geschossen zu beobachten waren, eher die Seltenheit darstellten. Gelegentlich konnten von den Geschossen sogar regelrechte Zellbrocken sichergestellt werden, bei denen die typische histologische Morphologie von Herzgewebe unter dem Mikroskop noch deutlich zu erkennen waren (im Gewebeverband: quergestreifte Muskelzellen mit typischen, mittelständigen Zellkernen, *disci intercalares* etc.)



Abbildung 8 – Herzzellen von PEP-Geschoss asserviert durch Spurensicherungsfolie der Polizei mit Wattefäden aus Kugelfang

4.2 Nachweis von Hepatozyten an PEP-Geschossen

Auch die Auswertung der Schussversuche auf Lebern ergab eine Nachweisquote von 100 %. Auch hier wurden insgesamt 70 Schuss abgegeben, die höhere Ausbeute von 57 auswertbaren Geschossen erklärt sich aus der Organgröße, da Lebern deutlich leichter zu treffen waren.

Bemerkenswert war die zumeist sehr große Anzahl nachweisbarer Zellen und Gewebetrümmer an den Projektilen. Auf den Objektträgern waren nach entsprechender Färbung häufig regelrechte Zellrasen zu erkennen. Die Auswertung war dann oft schon nach dem ersten Blick ins Mikroskop möglich (s. Abbildung 9). Das Lebergewebe scheint aufgrund der geringeren Dichte und der lockeren Struktur noch besser an den Geschossen haften zu bleiben als Herzgewebe. Die Gewebespuren waren meist schon makroskopisch auf den PEP-Geschossen zu erkennen. Auch hier ergab die Auswertung einen Nachweis von biologischen Spuren hepatozellulären Ursprungs in 100 % der Fälle (s. Tabelle 11 im Anhang).

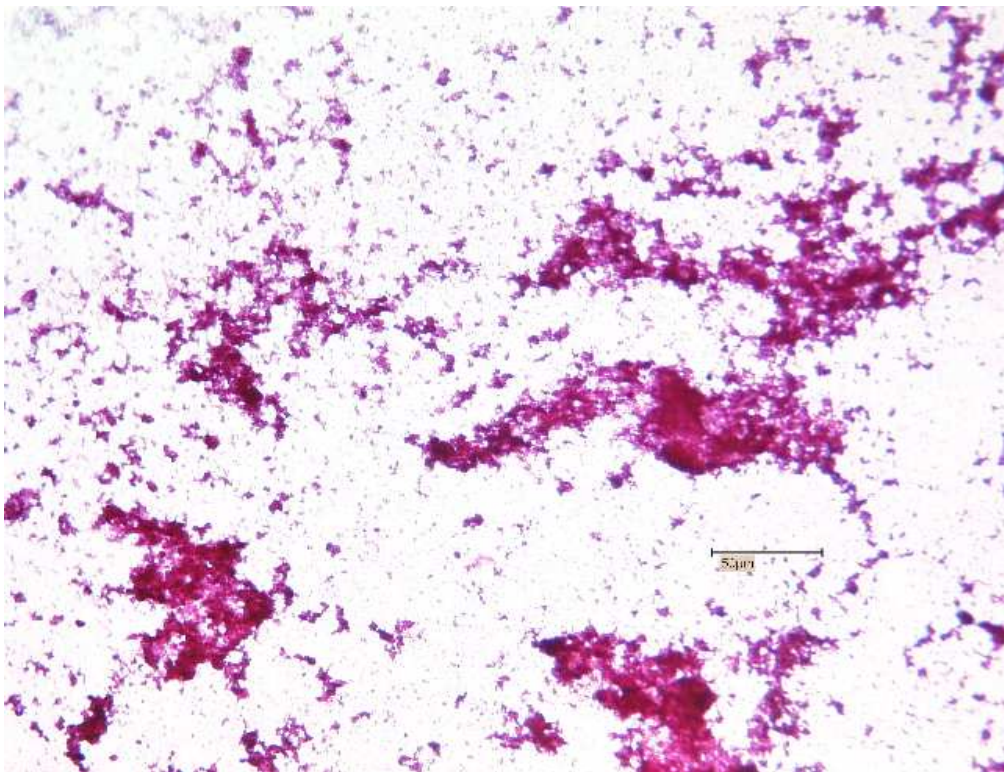


Abbildung 9 – Leberzellen von PEP-Geschoss (Abstrich)

4.3 Nachweis von Herz- und Leberzellen an PEP-Geschossen (Doppelfärbung)

Im Falle der Versuche beide Organe mit nur einer Kugel zu treffen waren sechs von zehn Schussversuchen erfolgreich. Die im Anschluss durchgeführten Doppelfärbungen erwiesen sich in der Auswertung als nicht ganz unkompliziert, da die in großer Anzahl auf den Präparaten vorhandenen Leberzellen häufig die Herzzellen überlagerten. Dennoch war es in den Randbereichen der Präparate gut möglich, Leber und Herzzellen nebeneinander ins Sichtfeld zu rücken (s. Abbildung 10). An allen sechs auswertbaren Geschossen war es somit problemlos möglich sowohl Leber- als auch Herzzellen spezifisch und eindeutig nachzuweisen (s. Tabelle 2). Der Vorteil von Mehrfachfärbungen ist, dass man mit nur einem Abstrich ein Projektil gleich auf mehrere Zellarten überprüfen kann. Dies kann im Hinblick auf die in der Praxis häufig doch sehr begrenzte Anzahl verfügbarer biologischer Spuren von Vorteil sein.

Tabelle 2 – Auswertung der Schussversuche auf Herz und Leber

Nr.	Obj. Nr.	Organ	Aufbau	Kugel	Methodik	AK	Erg.
1	121	H+L	in Gelatine	PEP	Abstrich	HP1	+
						T. I	+
2	122	H+L	in Gelatine	PEP	Abstrich	HP1	+
						T. I	+
3	123	H+L	in Gelatine	PEP	Abstrich	HP1	+
						T. I	+
4	124	H+L	in Gelatine	PEP	Abstrich	HP1	+
						T. I	+
5	125	H+L	in Gelatine	PEP	Abstrich	HP1	+
						T. I	+
6	126	H+L	in Gelatine	PEP	Abstrich	HP1	+
						T. I	+



Abbildung 10 – Herzzellen (s. Pfeile) und Leberzellen (Kreis) nebeneinander nach Doppelfärbung

4.4 Statistische Auswertung der Versuche mit PEP-Geschossen

Zählt man alle PEP-Geschosse zusammen, an denen der Versuch des Nachweises von Leber oder Herzgewebe erfolgt ist, so ergibt sich für die Gesamtanzahl der auswertbaren Versuche, bei denen das Organ getroffen wurde, und damit den Gesamtumfang der Stichprobe eine Fallzahl von $n = 111$.

Für die Erfolgswahrscheinlichkeit ergibt sich dementsprechend bei 111 positiven Nachweisen (Doppelfärbungen nur einfach gezählt) und keinem negativen Ergebnis:

$$p = 111/111 = 100 \%,$$

da alle Nachweise positiv ausfielen.

Für das exakte 95 % - Konfidenzintervall ergibt sich für eine Binomialverteilung nach Clopper-Pearson 96.73 % als untere Schranke und 100 % als obere Schranke. Diese Schranken enthalten den wahren Wert mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 %. Für eine Binomialverteilung mit $n=111$ und $p=95\%$ wird ein Wert von 111 nur mit einer Wahrscheinlichkeit von 0.337 % erwartet.

Für den Fall der PEP-Geschosse kann man somit sagen, dass mit dem hier untersuchten Verfahren der Nachweis von spezifischen biologischen Spuren an Geschossen des Typs PEP zumindest im Falle von Leber- bzw. Herztreffern mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit gelingt.

4.5 Versuche mit weiteren Geschossen

Um exemplarisch zu zeigen, dass die betreffenden Erkenntnisse auch auf andere Geschosstypen übertragbar sind, wurden im Laufe der Versuche auch noch andere Geschosstypen des Kalibers 9 mm untersucht. Hierbei handelte es sich um Vollmantelgeschosse (VMG) sowie Hohlspitzgeschosse (HSG). Dabei zeigte sich, dass ein Nachweis bei beiden dieser Geschosstypen ebenfalls gelingen kann, allerdings war der Abstreifeffekt bei den Vollmantelgeschossen augenscheinlich höher als bei den verwendeten Deformationsgeschossen. Dies äußerte sich vor allem darin, dass auf den Objektträgern weniger und vor allem eher vereinzelte Zellen nachzuweisen waren. Dennoch blieben in allen Fällen genügend biologische Spuren auf den Geschossen haften, um einen spezifischen Nachweis des betreffenden Gewebes zu ermöglichen. Auch hier ließen sich die Zellen mit den genannten Färbemethoden spezifisch anfärben. Im Unterschied zu den meisten Deformationsgeschossen, bei denen Gewebereste oft schon mit dem bloßen Auge zu erkennen waren, war dies bei den VMG nicht der Fall. Die Geschosse schienen blank zu sein. Dennoch lohnt sich anscheinend der Versuch Zellen auf diesen nachzuweisen, denn nach den Abstrichen waren auf allen Objektträgern Zellen zu sehen und auch die Spurensicherungsfolie brachte positive Resultate.

4.5.1 Hohlspitzgeschosse (HSG)

Da den Hohlspitzgeschossen von den verwendeten Geschosstypen die mit Abstand stärkste Deformation widerfährt, bieten sie auch neben scharfen Kanten genügend Hohlräume, in denen sich Zell- und Gewebereste fangen und haften bleiben können. Dadurch wird der Nachweis biologischer Spuren erheblich erleichtert. Häufig fanden sich unter dem Mikroskop auf den Objektträgern regelrechte Zellrasen (s. Abbildung 12).

Ähnlich wie bei den PEP-Geschossen waren auch hier meist schon makroskopisch Spuren organischen Ursprungs zu sehen. Die Auswertung der gewonnenen und im Anschluss gefärbten Präparate erwies sich hierbei erwartungsgemäß als unproblematisch. Die Ergebnisse der Auswertung sind in Tabelle 3 aufgeführt. Ein Nachweis des beschossenen Organs war auch hier in allen Fällen problemlos möglich. Die Ergebnisse der Spurenauswertung unter dem Mikroskop sind exemplarisch in Abbildung 11 und Abbildung 12 dargestellt.

Tabelle 3 – Auswertung der Schussversuche mit Hohlspitzgeschossen

Nr.	Obj. Nr.	Organ	Aufbau	Kugel	Methodik	AK	Erg.
1	23	Herz	nur Organ	HSG	Abstrich	T. I	+
2	55	Herz	In Gelatine	HSG	Abstrich	T. I	+
3	56	Herz	In Gelatine	HSG	Abstrich	T. I	+
4	58	Herz	In Gelatine	HSG	Abstrich	T. I	+
5	61	Herz	In Gelatine	HSG	Abstrich	T. I	+
6	62	Herz	In Gelatine	HSG	Abstrich	T. I	+
7	24	Leber	nur Organ	HSG	Abstrich	HP1	+

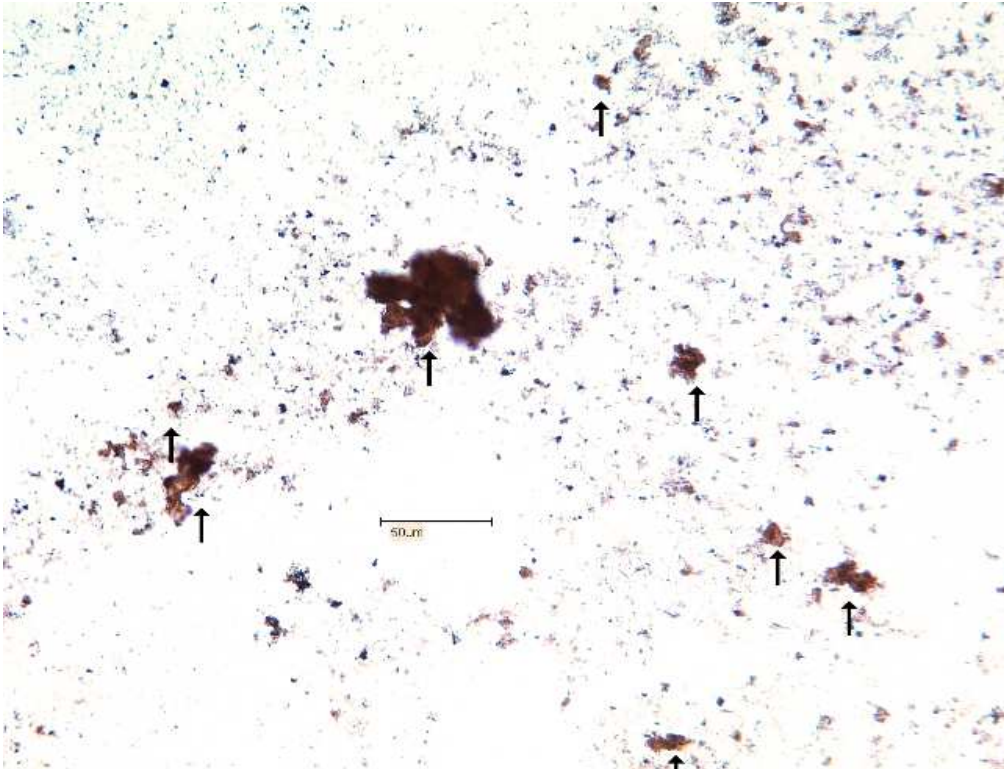


Abbildung 11 – Herzzellen von HSG (Abstrich)



Abbildung 12 – Leberzellen von HSG (Abstrich)

4.5.2 Vollmantelgeschosse (VMG)

Die Auswertung der Vollmantelgeschosse erwies sich grundsätzlich als etwas schwieriger, da hier auf den Geschossen nur ganz vereinzelt Zellen und Gewebereste zurückblieben. Dennoch waren auf allen Geschossen eindeutig Zellen des gesuchten Gewebes nachzuweisen, sodass zumindest exemplarisch gezeigt werden konnte, dass das hier angewendete Verfahren auch bei Geschossen, die sich nicht deformieren, zum Erfolg führen kann.

Die Ergebnisse der Auswertung der Schussversuche mit VMG sind in Tabelle 4 aufgeführt und mikroskopische Präparate der Auswertung von VMG sind exemplarisch in Abbildung 13 und Abbildung 14 zu sehen.

Tabelle 4 – Auswertung der Schussversuche mit Vollmantelgeschossen

Nr.	Obj. Nr.	Organ	Aufbau	Kugel	Methodik	AK	Erg.
1	2	Herz	nur Organ	VM	Folie	T. I	+
2	3	Herz	nur Organ	VM	Folie	T. I	+
3	11	Herz	nur Organ	VM	Abstrich	T. I	+
4	17	Herz	nur Organ	VM	Abstrich	T. I	+
5	48	Herz	In Gelatine	VM	Abstrich	T. I	+
6	5	Leber	nur Organ	VM	Folie	HP1	+
7	6	Leber	nur Organ	VM	Folie	HP1	+
8	14	Leber	nur Organ	VM	Abstrich	HP1	+
9	21	Leber	nur Organ	VM	Abstrich	HP1	+

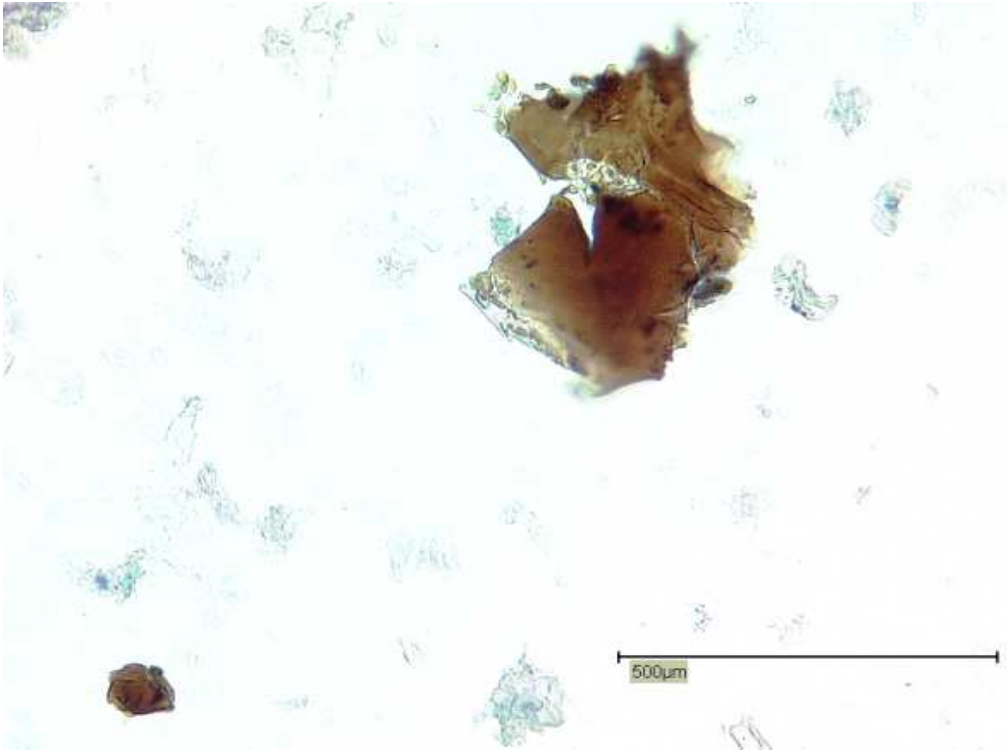


Abbildung 13 – Herzzellen von VMG (Abstrich)

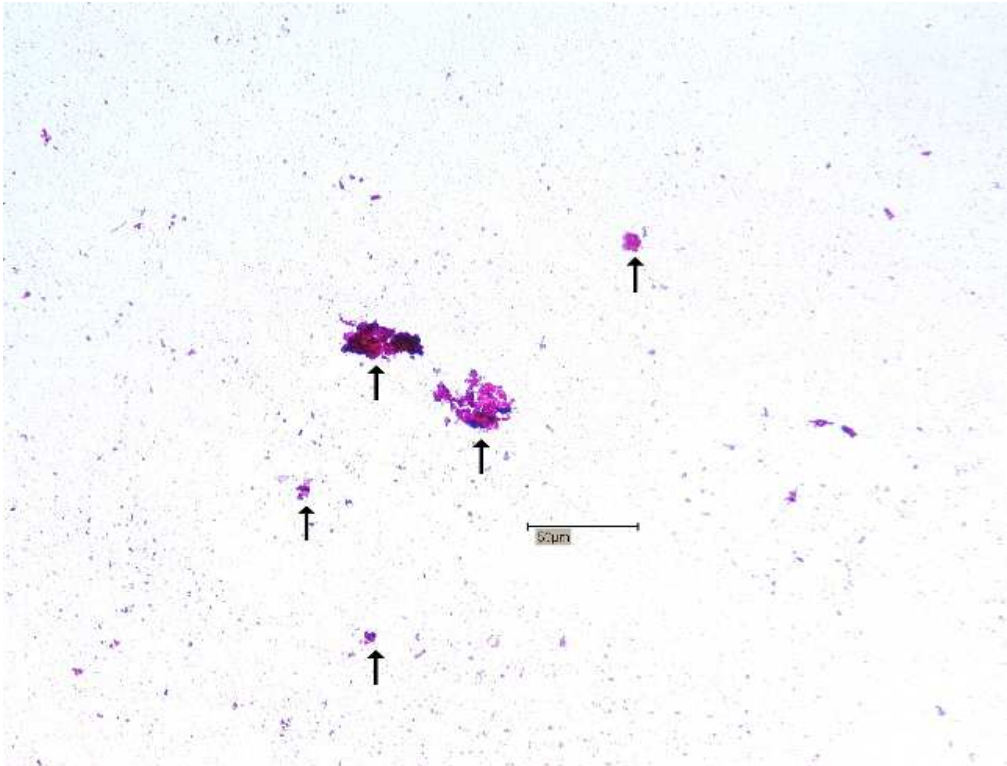


Abbildung 14 – Leberzellen von VMG (Abstrich)

4.6 Kreuzproben

In Ergänzung zu den Negativkontrollen und den zahlreichen Färbungen, die bereits im Vorfeld anhand von Asservaten des Institutes durchgeführt wurden, um Kreuzreaktivitäten zwischen den Antikörpern und den jeweiligen Geweben auszuschließen (s. Tabelle 1), wurde auch bei der Untersuchung der Geschosse der Vollständigkeit halber noch einmal eine Kreuzprobe zwischen Leber und Herzgewebe durchgeführt. Die Zellen wurden durch Abstriche von den Geschossen gewonnen. Anschließend wurde das Vorhandensein von Zellen unter dem Mikroskop kontrolliert, bevor die Färbungen durchgeführt wurden. Die Zellen von dem Projektil, mit dem auf ein Herz geschossen worden war, wurden mit einem AK gegen HP1 inkubiert und die von dem Projektil, welches durch eine Leber geschossen wurde, mit AK gegen Troponin I. Als Ergebnis ergaben die Färbungen erwartungsgemäß jeweils keine spezifischen Nachweise für Leber- bzw. Herzgewebe (s. Tabelle 5). Dies spricht wiederum für die Spezifität der Färbungen.

Tabelle 5 – Ergebnisse der Kreuzprobe

Nr.	Obj. Nr.	Organ	Aufbau	Kugel	Methodik	AK	Erg.
1	18	Leber	nur Organ	VM	Abstrich	T. I	-
2	19	Herz	nur Organ	PEP	Abstrich	HP1	-

4.7 Kontrollfärbungen

Positive und negative Kontrollen sind in der Immunhistochemie notwendig, „um die Methodik und die dabei verwendeten Reagenzien zu Überprüfen und eine Qualitätssicherung zu gewährleisten“ (Noll 2000). Ohne diese Kontrollen kann, wie bereits in Abschnitt 3.6.2 erläutert, nicht sichergestellt werden, dass die Färbungen auch wirklich funktioniert haben.

Nachfolgend seien daher die Ergebnisse der stets mitgeführten Kontrollfärbungen kurz erläutert.

4.7.1 Positivkontrollen

Der Nachweis der gesuchten Antigene gelang bei den Positivkontrollen, ganz gleich nach welcher der oben beschriebenen Methoden die Zellen gewonnen wurden, in 100 % der Fälle (s. Tabelle 6). Falsch-negative Befunde konnten damit für alle Färbungen ausgeschlossen werden.

Tabelle 6 – Positivkontrollen zu den Färbungen

Nr.	F.-Nr.	Organ	AK	Erg.
1	1	Herz	T. I	+
2	1	Leber	HP1	+
3	2	Herz	T. I	+
4	2	Leber	HP1	+
5	3	Herz	T. I	+
6	4	Herz	T. I	+
7	5	Herz	T. I	+
8	6	Herz	T. I	+
9	7 a	Leber	HP1	+
10	7 b	Leber	HP1	+
11	8	Leber	HP1	+
12	9	Leber	HP1	+
13	9	Herz	T. I	+
14	10	Leber	HP1	+
15	11	Leber	HP1	+

4.7.2 Auslasskontrollen

Bei den Auslasskontrollen gab es bei einem Färbeversuch (F.-Nr. 7 a, s. Tabelle 7) eine positive, unspezifische Anfärbung der Auslasskontrolle. Eine unspezifische (falsch-positive) Anfärbung von Zellen auf den zu untersuchenden Objektträgern konnte somit nicht mehr eindeutig ausgeschlossen werden. Es war daher erforderlich, die Gewinnung der Zellen in einem erneuten Abstrichverfahren zu wiederholen und diese Präparate im Anschluss erneut zu färben (F.-Nr. 7 b). Hierbei funktionierten alle Kontrollfärbungen wie vorgesehen und auch die zu untersuchenden Präparate wiesen noch genügend Zellen auf, um eindeutig positive Ergebnisse zu erhalten. Der Grund für die unspezifische Anfärbung konnte im Nachhinein nicht eindeutig geklärt werden.

Tabelle 7 – Auslasskontrollen zu den Färbungen

Nr.	F.-Nr.	Organ	AK	Erg.
1	1	Herz	H (-)	-
2	1	Leber	L (-)	-
3	2	Herz	H (-)	-
4	2	Leber	L (-)	-
5	3	Herz	H (-)	-
6	4	Herz	H (-)	-
7	5	Herz	H (-)	-
8	6	Herz	H (-)	-
9	7 a	Leber	L (-)	+
10	7 b	Leber	L (-)	-
11	8	Leber	L (-)	-
12	9	H+L	(-) (-)	-
13	10	Leber	L (-)	-
14	11	Leber	L (-)	-

In Abbildung 15 ist eine Auslasskontrolle im Vergleich zu einer positiven Anfärbung von Leberzellen zu sehen. Abbildung 16 zeigt entsprechendes für erfolgreich markierte Herzzellen.

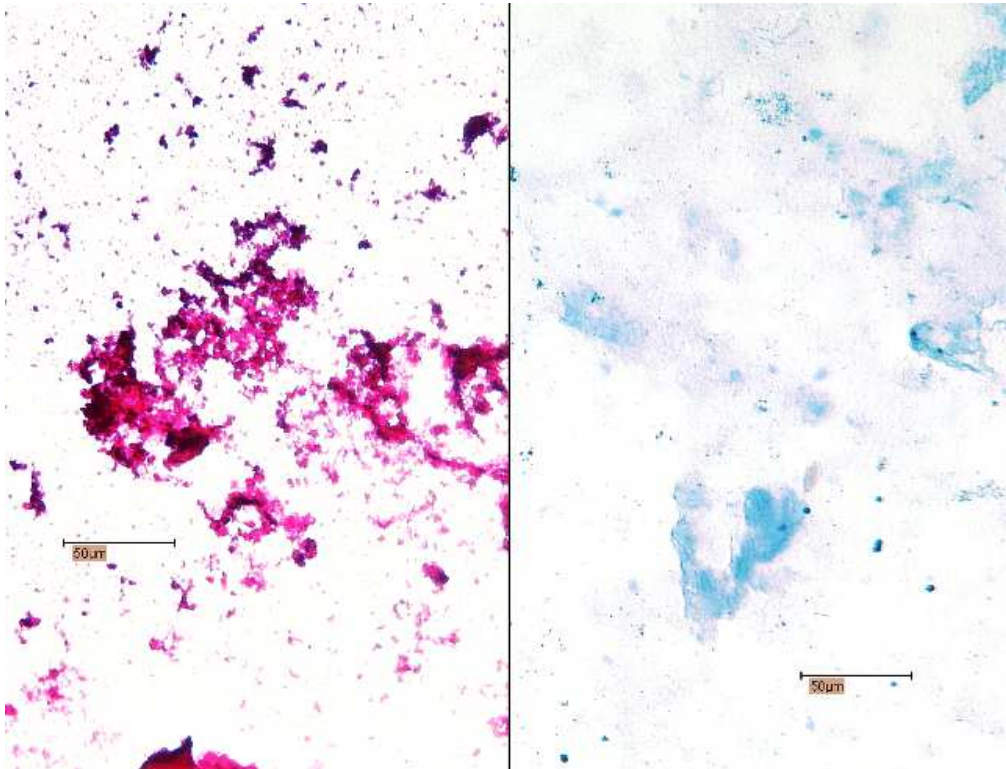


Abbildung 15 – Leberzellen (positiv, li.) vs. Auslasskontrolle (negativ, re.)

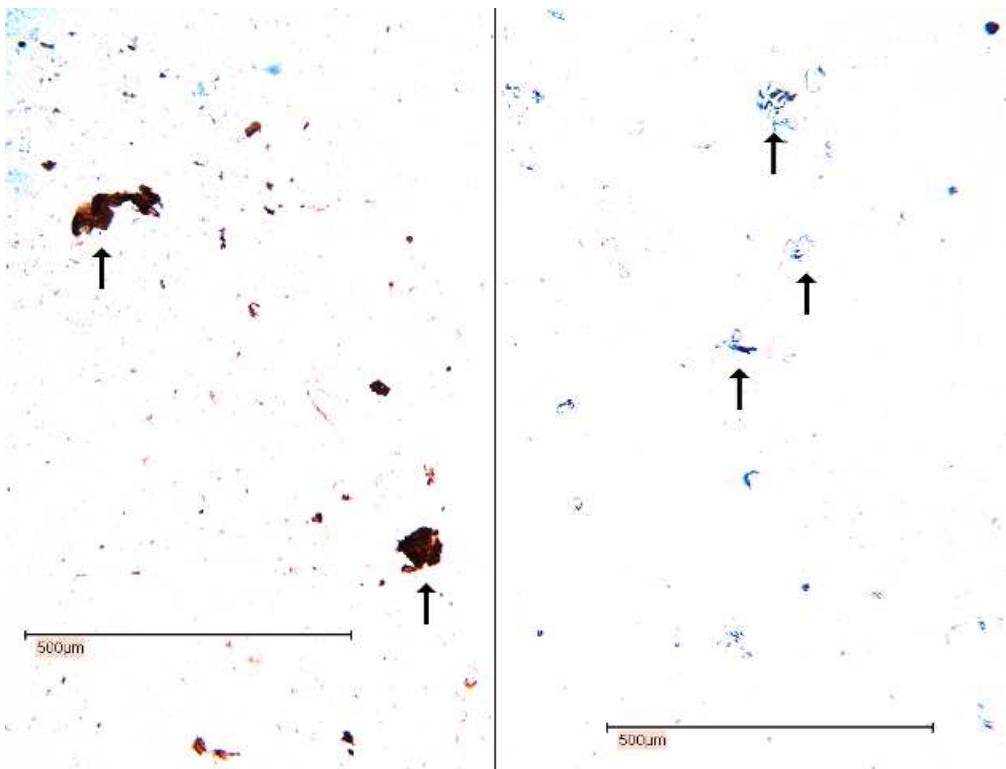


Abbildung 16 – Herzzellen (positiv, li.) vs. Auslasskontrolle (negativ, re.)

4.7.3 Negativkontrollen

Auch die Negativkontrollen gelangen in 100 % der Fälle (s. Tabelle 8).

Obwohl aufgrund der in den Vorversuchen bereits nachgewiesenen Spezifität der Färbungen für die Organe Herz und Leber hier keine positiven Anfärbungen zu erwarten waren, wurde bei jeder Färbung der Vollständigkeit halber noch eine Negativkontrolle mitgeführt, in der Schnitte von Milz, Leber oder Lunge vom Schwein in gleicher Weise wie die von den Geschossen gesicherten Zellen gefärbt wurden.

Falsch positive Markierungen traten erwartungsgemäß nicht auf.

Tabelle 8 – Negativkontrollen zu den Färbungen

Nr.	F.-Nr.	Organ	AK	Erg.
1	1	Milz	HP1	-
2	1	Milz	T. I	-
3	2	Lunge	HP1	-
4	2	Lunge	T. I	-
5	3	Niere	T. I	-
6	4	Lunge	T. I	-
7	5	Milz	T. I	-
8	6	Milz	T. I	-
9	7 a	Niere	HP1	-
10	7 b	Niere	HP1	-
11	8	Niere	HP1	-
12	9	Lunge	HP1	-
13	9	Lunge	T. I	-
14	10	Milz	HP1	-
15	11	Niere	HP1	-

4.8 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die durchgeführten Schussversuche und deren Auswertung zeigen, dass an den Geschossen des Typs PEP regelmäßig ausreichend Zellen haften bleiben, um nach Sicherung selbiger auf einem Objektträger, sei es im Abstrichverfahren oder durch Asservieren mittels Spurensicherungsfolie, die Zellen immunzytochemisch zu färben und deren Organzugehörigkeit zu bestimmen.

Abstreifeffekte durch Haut oder umliegendes Muskelgewebe (hier: simuliert durch die Gelatine) hatten anscheinend keinen allzu großen Einfluss auf die resultierenden Ergebnisse. Eine eindeutige Bestimmung der Organzugehörigkeit sichergestellter Zellen war in allen Fällen und bei allen verwendeten Geschosstypen möglich. Durch den Beschuss von Gelatineblöcken konnte durch den Verlauf des Schusskanals sichergestellt werden, dass die Geschosse die Organe auch wirklich getroffen hatten. Fehlversuche konnten so verworfen werden.

An PEP-Geschossen waren häufig schon makroskopisch Zellen bzw. Gewebereste erkennbar (s. Abbildung 20). Gerade im Abstrichverfahren war es hierdurch nicht selten möglich, durch die Konzentration der Zellen im Rahmen der Eintrocknung auf dem Objektträger einen dichten Zellrasen zu erzeugen. Dies machte eine Auswertung des Ergebnisses meist sehr einfach. In manchen Fällen war die Auswertung allerdings erst durch genaues Hinschauen möglich, vor allem dann, wenn nur wenige Zellen auf dem Objektträger gesichert werden konnten.

Auch in den Versuchen mit anderen Geschosstypen des Typs HSG bzw. VMG konnte exemplarisch gezeigt werden, dass beide Verfahren, sowohl das Abstrichverfahren wie auch das Anwenden der Spurensicherungsfolie, zuverlässig eindeutige Ergebnisse liefern können. HSG und VSG wurden stellvertretend für Zerlegungsgeschosse (HSG) bzw. formstabile Geschosse (VMG) verwendet. Erwartungsgemäß war bei den VMG die Ausbeute an anfärbaren Zellen deutlich geringer. Nichtsdestotrotz verblieben auch auf diesen Projektilen genügend Zellen, um diese selektiv anfärben zu können.

5 Diskussion

5.1 Epidemiologie

Aktuelle Zahlen des Bundeskriminalamtes belegen die hohe Anzahl von Straftaten, bei denen in Deutschland von Schusswaffen Gebrauch gemacht wird. So wurden im Jahr 2006 über 4500 Straftaten registriert, bei denen eine Schusswaffe verwendet wurde (Polizeiliche Kriminalstatistik 2006). Dabei entfallen über ein Drittel der Fälle auf gefährliche und schwere Körperverletzung und Straftaten gegen das Leben.

Bei Tötungsdelikten, die innerhalb von Deutschland verübt wurden, schwankt der Anteil der Straftaten bei denen eine Schusswaffe als Tatwerkzeug verwendet wurde je nach Studie zwischen 19 und 30 % (Rammelsberg & Nowak 1999, Leistler 2006). Im außereuropäischen Ausland ist der Anteil in der Regel sogar weitaus höher. In den USA werden bspw. 60 - 70 % der Fremdtötungen mit Schusswaffen begangen (Chapman 1996, Dahlberg et al. 2004, Rosengart et al. 2005). In der Türkei waren es 63 % (Azmak et al. 1998), in Kolumbien sogar 90 % (Cardona et al. 2005). Die eindeutigen Unterschiede zwischen den genannten Ländern lassen sich mit der von Land zu Land unterschiedlichen Waffengesetzgebung sowie den Unterschieden hinsichtlich der Verfügbarkeit von Waffen erklären. Nichtsdestoweniger belegen diese Zahlen die Bedeutung von Tötungsdelikten mit Schusswaffen, auch für Länder wie Deutschland mit einer im internationalen Vergleich sehr restriktiven Waffengesetzgebung.

Fremdtötungen mittels Schusswaffe erfolgen oftmals unter mehrfacher Schussabgabe. Dabei kommen aufgesetzte Schüsse genauso vor wie Schüsse aus geringer oder weiterer Entfernung. Die Trefferlokalisation linksthorakal-vorne ist die in Deutschland am Häufigsten zu beobachtende (Rammelsberg & Nowak 1999), aber auch die Leber wird aufgrund ihrer Größe nicht selten in Mitleidenschaft gezogen. Selbst bei Unfällen wird in über einem Drittel der Fälle der Körperstamm getroffen (Karger et al. 1996 b). Herz- und Leberschüsse sind daher von hoher rechtsmedizinischer Relevanz und Schussverletzungen dieser

Organe sind im Allgemeinen als lebensgefährlich einzustufen. Aus diesem Grund wurden diese beiden Organe auch in unseren Versuchen verwendet. Bezüglich der Art der verwendeten Waffen ist auffällig, dass in der weit überwiegenden Anzahl der Fälle Kurzwaffen wie Pistolen oder Revolver verwendet werden. Dies geschah z.B. in der Zeit von 1993 bis 1999 in 77 % der im Einzugsbereich der Rechtsmedizin Münster registrierten Fälle (Leistler 2006). In anderen Untersuchungen lag der Gebrauch von Kurzwaffen zwischen 65 und 80 % (Karger et al. 2002, Rammelsberg & Nowak 1999). In über 80 % der Fälle wurden illegale Waffen verwendet, meist in den gängigen Kalibern 7,65 mm und 9 mm Para / Luger. Daher wurde auch in dieser Arbeit auf gängige Kurzwaffen des Kalibers 9 mm zurückgegriffen, was eine Anwendung der untersuchten Methoden bei Kugeln anderen Kalibers jedoch keineswegs ausschließt, wie einzelne Studien bereits belegen (Nichols & Sens 1990, Knudsen 1993).

5.2 Ergebnisse

Im Rahmen der durchgeführten Versuche konnte eindeutig gezeigt werden, dass immunzytochemische Verfahren einen zuverlässigen Weg darstellen um nachzuweisen, welche Organe eine bestimmte Kugel durchschlagen hat. Durch den vergleichsweise großen Umfang der Stichprobe konnte gezeigt werden, dass ein solcher Nachweis im Falle von PEP - Geschossen, wie sie seit 1999 im Polizeidienst verwendet werden, mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit gelingt.

Ein Nachweis der getroffenen Organe war in allen der 111 mit PEP-Geschossen durchgeführten Versuche möglich, bei denen das Organ ordnungsgemäß getroffen wurde.

Aber auch bei den alternativ verwendeten Geschossen des Typs VMG oder HSG war ein Nachweis in allen Fällen möglich, so dass zumindest exemplarisch gezeigt werden konnte, dass die angewendeten Verfahren auch hier zum Erfolg führen können. Dies belegen auch Untersuchungen und Case Reports in denen bereits gezeigt werden konnte, dass der Nachweis von biologischen Spuren an Vollmantel- bzw. Hohlspitzgeschossen prinzipiell gelingen kann (Smith & Harruff 1988, Nichols & Sens 1990, Knudsen 1993).

Bei dem hier angewandten Markierungsverfahren handelt es sich um die LSAB-Methode. In Voruntersuchungen konnte bereits gezeigt werden, dass dieses Verfahren sowohl beim Menschen wie auch beim Schwein hervorragend zum spezifischen Nachweis der Organherkunft von Leber- bzw. Herzzellen herangezogen werden kann (Wehner et al. 2007). Für die im weiteren Verlauf durchgeführten Versuche konnte daher ausschließlich auf Schweineorgane zurückgegriffen werden. Der Beschuss von menschlichen Leichen verbot sich aus ethischen Überlegungen, da von ihm keine weitergehenden Erkenntnisse zu erwarten gewesen wären.

Zur spezifischen immunzytochemischen Markierung der Zellen wurden monoklonale Antikörper gegen ein mitochondriales Antigen von Epithelzellen der Leber (HepPar1) zum Nachweis von Hepatozyten (Leberzellen), sowie Antikörper gegen kardiales Troponin I zur spezifischen Detektion von Kardiomyozyten (Herzmuskelzellen) als Primär-AK verwendet, da die entsprechenden Antigene sich als hochspezifisch für diese beiden Organe erwiesen haben:

Troponin I ist ein 23 kDa schweres Protein und bildet zusammen mit den Troponinen T und C eine von drei Untereinheiten des Troponin-Komplexes der quergestreiften Muskulatur. Es ist dort an Actin und Tropomyosin gebunden (Hansen & Rossen 1999) und maßgeblich für die kalziumabhängige Regulation der Actin-Myosin-Wechselwirkung bei der Muskelkontraktion verantwortlich (Löffler 2003). Die kardialen Troponine I und T unterscheiden sich strukturell von den entsprechenden Troponinen in der Skelettmuskulatur und sind somit kardiospezifisch. Das bedeutet, dass sie nur in der Herzmuskulatur vorkommen. Diesen strukturellen Unterschied macht man sich nun bei der immunhistochemischen Identifikation von Herzmuskelgewebe zunutze, da es möglich ist AK spezifisch nur gegen die kardialen Troponine I bzw. T zu synthetisieren. Ein solcher AK der Fa. Dako wurde für die hier angewandten immunzytochemischen Detektionsverfahren verwendet.

Als Laborparameter wird Troponin I im klinischen Alltag bereits standardmäßig zur Diagnose bzw. zum Ausschluss von Herzinfarkten herangezogen (Falahati et al. 1999, Maisel et al. 2000).

Auch in der Rechtsmedizin wurde Troponin I als möglicher biochemischer Marker zur post-mortem Diagnose von frühen Herzinfarkten als mögliche Todesursache vor einigen Jahren ins Feld geführt (Hansen & Rossen 1999). Spätere Untersuchungen zeigten aber, dass Troponin I zwar nach Herzinfarkten im Serum und im Perikard erhöhte Konzentrationen aufweisen kann, dass dies jedoch auch bei anderen Todesursachen der Fall ist, sodass die Spezifität dieses Parameters für diesen Zweck nicht allzu groß zu sein scheint (Pérez-Cárceles et al. 2004).

Troponin I ist essentieller Bestandteil des Herzens und kommt dort immer vor. Daher ist es im Falle der PEP-Geschosse nahezu ausgeschlossen, dass ein Geschoss das Herz getroffen hat, wenn der spezifische Nachweis von Herzzellen nach dem hier beschriebenen Verfahren nicht gelingt, sofern die Geschosse innerhalb weniger Stunden nach der Tat einer Analyse zugeführt werden konnten. Dies gilt nicht mehr, wenn die Zersetzung der Proteine schon zu weit fortgeschritten sein könnte, da im Falle einer Zersetzung der Troponine eine Auswertung auch negativ ausfallen kann, obwohl das Geschoss das Herz getroffen hat.

HepPar1 ist ein Antigen, welches spezifisch für Leberzellen ist (Amarapurkar et al. 2006). Es lässt sich sowohl in normalen Leberzellen wie auch in neoplastischen Leberzellen (bspw. bei hepatozellulären Karzinomen) nachweisen. Hierbei hat sich die Detektion von HepPar1 als nützlichen Marker zur Differenzierung von Leberzellkarzinomen (HCC) von Metastasen anderer Tumoren und Cholangiokarzinomen herausgestellt (Zhen et al. 2003, Amarapurkar et al. 2006, Shiran et al. 2006). Neuere Studien haben gezeigt, dass sich das betreffende Antigen nur in den Mitochondrien der Leberparenchymzellen detektieren lässt (Pang et al. 2006). Erst kürzlich gelang der Nachweis, dass es sich bei HepPar1 um ein mitochondriales Enzym des Harnstoffzyklus mit einer Größe von 165 kDa handelt, nämlich um die Carbamoylphosphatsynthetase 1 (CPS1). Die CPS1 ist entscheidend an der Harnstoffzyklus-Regulation in den Mitochondrien beteiligt (Butler et al. 2008). Das erklärt auch die hohe Spezifität von HepPar1 für die Leber, da sich der Harnstoffzyklus nur dort abspielt. Er ist damit anderen Markern für eine

hepatozelluläre Differenzierung wie bspw. AFP oder CEA vorzuziehen, da diese regelmäßig auch in anderen Geweben (z. B. Mukosazellen des Darms, Keimzelltumoren, etc.) nachgewiesen werden können.

Im Falle der Leber könnte im Gegensatz zu Herzzellen der Nachweis von Leberzellen an Geschossen nach dem hier beschriebenen Verfahren unter Umständen allerdings auch dann negativ ausfallen, wenn die Kugel die Leber getroffen hat und das Geschoss rechtzeitig einer Untersuchung zugeführt wurde, falls die Leber bspw. durch eine Leberzirrhose in ihrer Syntheseleistung schon so weit eingeschränkt ist, dass sie nicht mehr in der Lage ist ausreichend HepPar1 zu synthetisieren. Besteht ein solcher Verdacht, so könnte man einen Schnitt der Leber des Opfers immunhistochemisch färben, um sich Klarheit zu verschaffen. Fällt dieser Markierungsversuch negativ aus, dann ist von einem Versuch des Nachweises von Leberzellen an den Geschossen nach dem hier beschriebenen Verfahren abzusehen, da ein positiver Nachweis in diesem Fall praktisch ausgeschlossen ist, unabhängig davon ob die Leber getroffen wurde oder nicht.

Die Ummantelung der Organe mit Haut sowie das Eingießen Selbiger in Gelatineblöcke waren bei allen Geschosstypen für das Ergebnis augenscheinlich nur von untergeordneter Bedeutung. Der Nachweis von biologischen Spuren an den Geschossen wurde hierdurch nicht signifikant erschwert. Einzig bei den VMG schienen grundsätzlich und unabhängig vom Versuchsaufbau eher vereinzelt Zellen nachzuweisen zu sein, was sich wahrscheinlich durch die glattere Oberfläche dieser Projektilart erklären lässt, die vermutlich dafür verantwortlich ist, dass quantitativ entsprechend weniger biologische Spuren an den Kugeln selbst haften blieben. Bei Deformations- bzw. Zerlegungsgeschossen dagegen entstehen im Schusskanal oft Lücken bzw. scharfe Kanten, an denen sich Gewebespuren sammeln können. Dies begünstigt die spätere Gewinnung von Zellen, welche oft schon makroskopisch auf den Geschossen zu erkennen waren (s. Abbildung 20).

Ganz allgemein war in nahezu allen Fällen zu beobachten, dass Leberzellen tendenziell leichter und vor allem in größerer Zahl nachzuweisen sind als Herzzellen. Dies liegt vermutlich daran, dass Muskelgewebe einen deutlich

stärkeren Zellverbund aufweist als bspw. das vergleichsweise lockere Lebergewebe. Wahrscheinlich bleiben deshalb mehr Leberzellen an den Geschossen haften. Die Organgröße könnte jedoch auch eine Rolle spielen, da die Leber einen deutlich größeren Durchmesser aufweist als das Herz und die Kugeln daher einen längeren Weg durch das Organ zurücklegen müssen, wenn sie dieses durchdringen. Außerdem scheinen die Leberzellen auf den Projektilen einen größeren Zellschaden durch die Wucht der Geschosse davonzutragen als die Herzmuskelzellen, was auch schon Nichols & Sens in ihren Studien aufgefallen ist (Nichols & Sens 1991). Die Geschwindigkeit könnte ebenfalls einen nicht unerheblichen Einfluss auf die Intaktheit der gewonnenen Zellen haben. Bei der Benutzung von „high velocity“ und „high performance“ Projektilen kann der Schaden an den Zellen unter Umständen deutlich größer ausfallen, als bei den hier verwendeten „low velocity“ Geschossen (ebd.). Dies könnte eine Gewinnung von biologischen Spuren an Hochgeschwindigkeitsprojektilen und ihre anschließende Analyse unter Umständen erschweren, jedoch sind positive Ergebnisse auch hier nicht ausgeschlossen, so dass der Versuch eines spezifischen Nachweises biologischer Spuren auch bei Hochgeschwindigkeitsprojektilen zu empfehlen ist.

Kreuzreaktionen bzw. falsch positive Ergebnisse durch die Verwendung von Schweinegelatine können ausgeschlossen werden, da die Gelatine nach Herstellerangaben aus reinem natürlichem Kollagen (Gerüsteiweiß der Knorpelzellen, der Sehnen und des Bindegewebes vom Schwein) hergestellt wird (Linnmann 2007). Da die verwendeten Antikörper sich hochspezifisch gegen Antigene des Herzens bzw. der Leber richten und reines natürliches Kollagen weder Troponine noch die detektierten hepatischen mitochondrialen Antigene enthält, eignete sich Gelatine hervorragend für die Versuche.

Die Beschaffenheit der Geschosse wird durch die hier angewendeten Untersuchungsmethoden nicht beeinträchtigt. Daher steht einer nachfolgenden ballistischen Untersuchung der Projektile zur eindeutigen Zuordnung zu eventuell infrage kommenden Tatwaffen durch einen Kriminologen oder Ballistiker nichts im Wege.

Außerdem konnte in Vorversuchen bereits gezeigt werden, dass auch nach den immunzytochemischen Färbungen DNA an gefärbten Zellen nachweisbar ist und eine DNA-Bestimmung zum Beispiel im Rahmen einer STR-Typisierung ohne Probleme möglich ist (Wehner et al. 2007). Sollte die Menge nachweisbarer nukleärer DNA hierfür einmal nicht ausreichen, so kann auch versucht werden mittels einer Bestimmung der mitochondrialen DNA zum Ziel zu gelangen, da diese in größerer Kopienzahl in den Zellen vorliegt (Szibor et al. 2000). Dabei können einzelne Zellen bspw. mittels „laser microdissection“ wieder von den Objektträgern gewonnen und dann weiterverarbeitet werden (Di Martino et al. 2004 a und b). Die Färbungen haben also auf die Gewinnung und Analyse der vorhandenen DNA nachweislich keinen Einfluss. Eine Zuordnung der Zellen zu einem oder mehreren infrage kommenden Opfern im Falle mehrerer verletzter Personen ist also problemlos möglich.

Für die PEP-Geschosse werden laut Herstellerangaben beim Beschuss von Gelatine maximale Eindringtiefen von 30 cm angegeben, allerdings zeigte sich in den Versuchen, dass durchaus auch Eindringtiefen von 40 cm und mehr möglich sind. Grund hierfür könnte möglicherweise der geringere Widerstand der in die Blöcke eingegossenen Organe im Vergleich zu Blöcken aus reiner ballistischer Gelatine sein. Dies zeigt, dass Durchschüsse in der Praxis bei den PEP-Geschossen durchaus möglich sind, eine Erfahrung, die nach systematischen Beschussversuchen auf Schweinekadaver bereits beschrieben worden ist. Hier kam es bei 23 von 50 Fällen (46 % der Fälle) zu Durchschüssen (Stein et al. 2006). Allerdings reicht die verbleibende Energie in der Regel nicht aus, um eine weitere Person ernsthaft zu gefährden (ebd. 2006).

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die hier beschriebenen immunzytochemischen Verfahren einen wertvollen Beitrag zur Klärung von Tötungsdelikten nicht nur bei Messerstichen, sondern auch bei Schussverletzungen und möglichen Kombinationen aus diesen leisten können. Auch wenn Ansätze existieren, charakteristische Geschosseintrittswunden und Schmauchpartikelspuren mit häufig verwendeter Munition und den am häufigsten verwendeten Waffen zu korrelieren (Stein et al. 2006, Lepik &

Vasiliev 2005), so kann ein wirklicher Nachweis des die Läsion verursachenden Geschosses auf diese Weise nur in Einzelfällen erfolgen.

Das hier beschriebene Verfahren bietet dagegen eine zuverlässige Möglichkeit, an einer sichergestellten Kugel den Nachweis zu erbringen, ob Herz und/oder Leber als Vertreter zweier lebenswichtiger Organe von dieser Kugel getroffen wurden oder nicht. Letztlich lässt sich dieses Verfahren durch den alternativen Einsatz weiterer AK, welche sich spezifisch gegen andere Gewebstypen wie bspw. Milzgewebe richten, erweitern. So kann ein spezifischer Nachweis unter Umständen auch für die übrigen Organe und Gewebstypen erfolgen.

5.3 Fehlerquellen

Gründe für Fehler in der Immunhistochemie sind vielfältig, meist methodischer Art und in den seltensten Fällen lässt sich die Ursache im Nachhinein bestimmen. Allgemeine Fehlerquellen entstehen vor allem durch Unachtsamkeit und betreffen z. B. das Verwechseln von Antikörpern, das Auslassen von Reaktionsschritten oder die falsche Verdünnung der Antikörper. Da es sich bei den im Rahmen dieser Versuche angefärbten Zellen um Nativmaterial handelt kommt zumindest eine Überfixation des Gewebes nicht in Betracht. Auch eine Paraffinierung des Gewebes erfolgte nicht. Gelegentlich führt zu heißes Paraffin zu einer Denaturierung der Proteine und kann damit die Ergebnisse einer immunhistochemischen Färbung negativ beeinflussen.

Falsch negative Immunreaktionen können auftreten, wenn die Trocknungstemperatur mehr als 60 °C beträgt, da das Antigen ab dieser Temperatur zerstört werden kann (Noll 2000). Die kurze Antrocknungszeit der Abstrichpräparate im Brutschrank bei 72 °C schien in unserem Fall allerdings keinen Einfluss auf die Ergebnisse zu haben. Hierbei sollte jedoch darauf geachtet werden, dass die Zellen nur für eine kurze Zeit dieser Temperatur ausgesetzt werden und nur so lange, bis die Zellen auf den Objektträgern eingetrocknet sind, da sonst eine Denaturierung der Proteine nicht ausgeschlossen werden kann. Zu einer Hemmung der Farbentwicklung kann es auch bei Verwendung Natriumazid-haltiger Spülpuffer in hohen Konzentrationen kommen, da Natriumazid die Bindung der Peroxidase an sein Substrat

verhindern kann. Unnötige Hintergrundreaktionen können durch ausreichend lange Spülzeiten vermieden werden. Als Grundsatz gilt hierbei, dass nicht zu viel gespült werden kann, nur zu wenig (Noll 2000).

Um die Wahrscheinlichkeit methodischer Fehler zu minimieren wurde in unserem Fall ein einheitliches Markierungsprotokoll verwendet (s. Abschnitt 9.4) und mögliche Fehlerquellen in regelmäßigen, kurzfristigen Abständen überprüft. Insbesondere jede negative Immunreaktion ist vor diesem Hintergrund kritisch zu betrachten und gegebenenfalls nachzuprüfen.

Bei unseren Versuchen trat in einem Fall eine falsch-positive immunzytochemische Markierung der Auslasskontrolle auf (s. Tabelle 7). Als mögliche Ursache kommt hier bspw. eine unzureichende Blockierung zelleigener Strukturen bei der Auslasskontrolle infrage, oder aber ein Fehler bei der Markierung an sich durch ein irrtümliches Vertauschen von Reagenzien. Möglich ist aber auch eine Interaktion zwischen dem als Negativkontrolle verwendeten Ig G Antikörper der Firma Dako und dem gefärbten Gewebe. Des Weiteren kommen unter Anderem unspezifische Chromogen-Gewebe-Addukte in Betracht. Der wahre Grund ließ sich jedenfalls im Nachhinein nicht mehr klären.

Eine im Anschluss durchgeführte erneute Gewinnung von Zellen von den untersuchten Geschossen und die anschließende Färbung Selbiger ergaben eindeutige Nachweise von Zellen der jeweils beschossenen Organe. Ein solches Vorgehen ist daher im Allgemeinen zu empfehlen, falls eine immunzytochemische Färbung nicht ordnungsgemäß funktioniert hat. Die Resultate des vorangegangenen Markierungsversuchs wurden in unserem Fall verworfen, sie hätten aber dennoch für eine DNA-Analyse verwendet werden können. Einzig und allein das Ergebnis der Färbung war nicht verwertbar.

5.4 Zeitabhängige Nachweisbarkeit der betreffenden Antigene

Um die zeitabhängige Nachweisbarkeit der betreffenden Antigene HepPar1 und Troponin I zu bestimmen, wurden im Vorfeld Versuche an Zellen mit unterschiedlichen Liegezeiten durchgeführt. Dabei wurden die in diesem Fall von Messerklingen sichergestellten frischen Zellen erst nach Liegezeiten (ungekühlt) bis zu einem Monat auf Objektträger verbracht und anschließend gefärbt. Hierbei stellte sich heraus, dass bereits nach 3 Tagen unspezifische Hintergrundfärbungen eintraten, welche aber noch keine Bedeutung für die Auswertbarkeit der betreffenden Ergebnisse hatten.

Nach 13 Tagen Liegezeit war eine Auswertung aufgrund der bereits zu weit fortgeschrittenen Degeneration der nachzuweisenden Gewebeproteine nicht mehr möglich (Wehner et al. 2007).

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die zu untersuchenden Geschosse nach den Schussversuchen bis zur Aufarbeitung bei ca. 4 °C im Kühlschrank gelagert. Hierdurch konnten in Einzelfällen auch noch nach mehr als 3 Wochen eindeutige Ergebnisse erzielt werden, da die getrockneten und gekühlten Zellen mitsamt ihrer spezifischen Gewebsstrukturen auf den Projektilen hierdurch erwartungsgemäß weit weniger schnell zu degenerieren schienen. Nach 4 Wochen war ein Nachweis jedoch auch hier nicht mehr möglich.

Aufgrund dieser begrenzten zeitlichen Nachweisbarkeit der zur organspezifischen Markierung herangezogenen Antigene empfiehlt es sich daher, sichergestellte Geschosse, die einer Analyse zugeführt werden sollen, gekühlt zu lagern und schnellstmöglich weiterzuverarbeiten, damit immunzytochemische Verfahren überhaupt noch für einen Nachweis der Organzugehörigkeit der sichergestellten Zellen genutzt werden können.

Einmal gefärbt können die Ergebnisse dann für längere Zeit (mehrere Jahre) aufbewahrt werden, ohne dass sich das Endergebnis der Färbungen hierbei noch weiter verschlechtert. Es empfiehlt sich jedoch, Abstrichpräparate einzudeckeln, um eine weitere Verschmutzung bzw. Verunreinigung des Objektträgers im Nachhinein zu verhindern.

5.5 Ergänzende Nachweismöglichkeiten der einer Kugel zuzuordnenden Schussverletzung

Während der Versuche wurden zwei Phänomene beobachtet, die eine ergänzende Möglichkeit bieten können, den Weg, den eine bestimmte Kugel genommen hat, der Kugel selber zuzuordnen. Dies betrifft wie nachfolgend erläutert überwiegend Teilmantel- bzw. Zerlegungsgeschosse.

In zwei Fällen konnte beobachtet werden, dass Teile eines Geschosses sich im Wundkanal vom Rest der Kugel lösten und dort zurückblieben.

Zum einen wurde eine Kugel, die in einem etwas zu steilen Winkel auf den Gelatineblock traf, am Boden der Tischplatte, auf der der Block gelagert war, in eine andere Richtung abgelenkt. Hierbei löste sich das blaue Kügelchen, welches sich bei den PEP-Geschossen an der Spitze des Projektils befindet, und verblieb an Ort und Stelle (s. Abbildung 22). In diesem Fall ist es offensichtlich, dass der betreffende Wundkanal von einem PEP-Geschoss verursacht wurde und somit nur ein Schütze für die Verletzung verantwortlich sein kann, der auch ein solches Geschoss verwendet hat. Diese Information ist jedoch nur dann von Nutzen, wenn nicht alle infrage kommenden Schützen PEP-Geschosse verwendet haben.

Der zweite Fall betrifft die HSG stellvertretend für Zerlegungsgeschosse. Hierbei konnte ein Splitter eines Hohlspitzgeschosses (s. Abbildung 23) in der linken Herzkammer eines in einen Gelatineblock eingegossenen Herzens gefunden werden. Auch hier kann in dem Fall nur ein Schütze infrage kommen, welcher ein solches Geschoss verwendet hat. In beiden der oben genannten Fälle kann so unter Umständen bei der Klärung eines Tathergangs schon im Vorfeld geklärt werden, wer als Schütze infrage kommt. Die Heranziehung von Metallpartikeln zum Verbinden eines bestimmten Projektils mit einer verursachten Eintrittswunde nach eben diesem Prinzip wurde in der Literatur bereits beschrieben (Zeichner 2003). Dennoch ist die immunzytochemische Aufarbeitung und Untersuchung der Geschosse auch hier zu empfehlen, da sie eindeutige Evidenz zu liefern imstande ist und so ggf. bestehende Zweifel zu beseitigen vermag.

5.6 Verfahren zur Zellgewinnung

Bezüglich des direkten Vergleichs der Ergebnisse von Abstrichen und Folie war zu beobachten, dass beide Verfahren sich prinzipiell dazu eignen ein Geschoss zu untersuchen. Spezifische Nachweise der gesuchten biologischen Spuren waren in allen Fällen und bei jedem Munitionstyp der verwendet wurde möglich. Allerdings haben die im Abstrichverfahren gewonnenen Ergebnisse den Vorteil, dass sie eingedeckelt werden können. Das erleichtert die spätere Archivierung der Ergebnisse und verhindert nachträgliche Verunreinigungen des Objektträgers. Die Spurensicherungsfolie dagegen adsorbiert über einen längeren Zeitraum in nicht unerheblichem Maße Schmutzpartikel z.B. aus der Luft.

Außerdem ist es bei der Gewinnung von Abstrichen leichter möglich die teilweise nur vereinzelt vorzufindenden Zellen auf eine kleine Fläche auf einem Objektträger zu konzentrieren, indem man diese vorher mit einem Dako-Pen umrahmt und die Suspension mit den biologischen Spuren auf dieser Fläche auf dem Objektträger eintrocknen lässt. Eine solche Möglichkeit bietet die Spurensicherungsfolie nicht, was eine nachträgliche Auswertung erschweren kann.

Die Gewinnung von DNA aus dem sichergestellten Zellmaterial ist in beiden Fällen möglich. Keines der beiden Verfahren unterliegt hierbei Einschränkungen. Für den Fall der Spurensicherungsfolie beschreiben Hall und Fairley in einem Artikel sogar ein Verfahren, in dem Folie, welche bereits für den Nachweis von Schmauchspuren verwendet wurde, auch zur Extraktion von DNA herangezogen werden kann (Hall & Fairley 2004). Sie erzielten hierbei eine 80%ige Erfolgsrate bei der Extraktion von DNA von einem Mini Tape. Die Möglichkeit einer DNA-Typisierung von biologischen Spuren an Vollmantel- und Hohlspitzgeschossen wurde darüber hinaus bereits vor einiger Zeit beschrieben (Karger et al. 1996 a). Hier lag die Erfolgsquote sogar bei 100 % der untersuchten Geschosse. Eine Kugel mit einem Opfer zu verbinden, welches durch diese verletzt wurde, erwies sich also als vergleichsweise unproblematisch.

Die Gewinnung der DNA von Objektträgern nach Abstrichverfahren wurde bereits in unseren Vorversuchen erfolgreich durchgeführt (Wehner et al. 2007) und gehört zu den Standardverfahren in der Rechtsmedizin.

Bei sämtlichen Versuchen konnten biologische Spuren stets unmittelbar beim ersten Anlauf von den Geschossen gewonnen und nachgewiesen werden. Sollte doch mal ein Ergebnis negativ ausfallen, so kann immer noch versucht werden einen erneuten Abstrich vom Geschoss zu gewinnen und diesen dann zu färben. Unter Umständen führt das dann zum gewünschten Ergebnis. Ein solches Vorgehen war hier jedoch in keinem Fall notwendig. In besonders schwierigen Fällen kann auch versucht werden, biologische Spuren an Geschossen unter dem Elektronenmikroskop gezielt zu lokalisieren und im Anschluss zur zytologischen Untersuchung zu entnehmen. Ein solches Verfahren stellten Di Maio et al. bereits vor etwa 20 Jahren vor. Ebenfalls beschrieb er die Möglichkeit, durch die Erfassung des Röntgenspektrums, welches von den adsorbierten Spuren am Geschoss bei diesem Verfahren ausgesendet wird, bereits erste Hinweise auf die chemische Zusammensetzung der Spuren zu bekommen (Di Maio et al. 1986).

In der Literatur werden darüber hinaus noch weitere Verfahren beschrieben, mit denen es prinzipiell möglich ist biologische Spuren von Geschossen zu asservieren. So schlägt bspw. Nichols vor, die Waschlösung, welche man nach dem Reinigungsvorgang von Kugeln vor ballistischen Untersuchungen in der Vergangenheit meist verworfen hat, mit einem zytologischen Filter der Porengröße 5 µm zu filtern (Nichols & Sens 1990). So erhält man auf der einen Seite ein für weitere Untersuchungen aufgereinigtes Geschoss, auf der anderen Seite aber auch Spuren, die im weiteren Verlauf zytologisch aufgearbeitet werden können. Des Weiteren ist es möglich, größere Zellansammlungen, die sich unter Umständen in den Rinnen und Furchen von Deformationsgeschossen sicherstellen lassen, in Paraffinblöcke einzubetten und anschließend histologisch aufzuarbeiten. Dieses Verfahren kann grundsätzlich auf jedes größere Gewebefragment angewendet werden und wurde ebenfalls bereits von Nichols & Sens erfolgreich durchgeführt (ebd. 1990). Letztlich ist das angewendete Verfahren zur Gewinnung der Zellen nur von untergeordneter

Bedeutung für das Ergebnis, solange es durch selbiges möglich ist, die Spuren auf einen Objektträger zu bringen und im Anschluss immunzytologisch aufzuarbeiten. Es sollte jedoch darauf geachtet werden, dass dies möglichst schonend geschieht, um eine anschließende Auswertung nicht zu erschweren. Entscheidender für den Erfolg ist weniger das Verfahren der Spurensicherung, sondern eher dass die Aufarbeitung zeitnah geschieht, bevor die Degeneration der Antigene zu weit fortgeschritten ist.

5.7 Schlussfolgerung aus der Arbeit

Wie die Versuche eindeutig zeigen konnten stellen immunzytochemische Verfahren eine zuverlässige Möglichkeit dar an Geschossen nachzuweisen, welche Organe diese verletzt haben. Dementsprechend sollte in komplizierteren bzw. nicht eindeutigen Fällen bei mehreren Schussverletzungen an einem oder mehreren Opfern der Versuch unternommen werden, die Zellen auf den sichergestellten Projektilen anhand von Färbeverfahren wie den hier beschriebenen ihrer jeweiligen Herkunft zuzuordnen. Da die beschriebenen Verfahren in keinem Fall limitierend für bereits etablierte Untersuchungsmethoden bei Schussverletzungen im rechtsmedizinischen Alltag sind, ist ein Versuch im Zweifelsfall immer anzuraten.

Limitiert wird das hier beschriebene Verfahren allerdings durch ein zeitliches Raster, da wie gezeigt werden konnte ein positiver Nachweis mittels der hier verwendeten Antikörper nur innerhalb von 13 Tagen unter schlechten Lagerungsbedingungen (z.B. bei Zimmertemperatur) bzw. bestenfalls noch nach maximal 4 Wochen bei trockener Lagerung im Kühlschrank zu erwarten ist. Eine zeitnahe Analyse der Zellen an sichergestellten Geschossen ist daher in jedem Fall zu empfehlen und sollte bei einer Überschreitung der zuvor genannten Liegezeiten unterbleiben.

6 Zusammenfassung

Wird ein Opfer durch mehrere Tatwerkzeuge verletzt, so ist es von höchster Relevanz nachzuweisen, welches Tatwerkzeug welche Verletzung verursacht hat. Umso bedeutender wird dieser Nachweis im Falle mehrerer infrage kommender Täter, wenn man eindeutig beweisen möchte, welcher Täter für welche Verletzungen des Opfers verantwortlich ist, auch vor dem Hintergrund dass häufig nicht alle Verletzungen zwangsläufig auch potentiell lebensgefährlich sind. Dieser Sachverhalt ist gerade auch bei Schussverletzungen relevant, wenn z.B. das Opfer einmal durch das Bein und einmal durch das Herz getroffen wurde. Im Falle von Durchschüssen war ein solcher Nachweis in der Vergangenheit häufig nicht möglich, da die Zuordnung der Schusskanäle zu den betreffenden Schützen im Nachhinein nicht mehr gelang.

Geht man davon aus, dass die Geschosse am Tatort aufgefunden werden können, wie es nicht selten der Fall ist, dann müsste für eine eindeutige Zuordnung der Verletzungen des Opfers zu den Schützen das Geschoss seinem jeweiligen Schusskanal am Opfer sowie einer Tatwaffe und einem Schützen eindeutig zugeordnet werden können.

Immunzytochemische Verfahren stellen, wie die Ergebnisse zeigen, eine effektive Möglichkeit dar, Verletzungen des Opfers eindeutig einem Schusskanal zuzuordnen, falls beim Opfer von den Kugeln unterschiedliche Organe getroffen wurden. Im Falle der PEP-Geschosse ist es mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit möglich Herz- bzw. Leberzellen an den Geschossen nachzuweisen, falls diese Organe getroffen wurden.

Der spezifische Organnachweis erfolgte im Rahmen dieser Arbeit über die Markierung herz- bzw. leberspezifischer Gewebeproteine mittels geeigneter Antikörper (Anti-kardiales-Troponin-I bzw. Anti-HepPar1) und anschließender „Sichtbarmachung“ dieser Antigen-Antikörper-Komplexe mittels eines geeigneten Chromogens. Ein solcher Nachweis ist Grundvoraussetzung dafür, dass eine Verletzung nach dem hier geschilderten Verfahren am Ende auch eindeutig einem Täter zugeordnet werden kann. Dabei wurden die Zellen

sowohl im Abstrichverfahren mit feuchter Watte, als auch durch Spurensicherungsfolie, wie sie von der Polizei verwendet wird, asserviert. Aufgrund der Organspezifität der untersuchten Proteine bedeutet der Nachweis eines Antigens an einem Projektil, dass Selbiges auch das Organ verletzt hat. So kann im Falle von mehreren Schussabgaben durch mehrere Schützen gezeigt werden, welches konkrete Geschoss nun welche Durchschussverletzungen verursacht haben kann. Haben die aufgefundenen Organe verschiedene Gewebe durchdrungen, was die Regel darstellt, so ist die eindeutige Zuordnung eines Schusskanals nach dem hier beschriebenen Verfahren mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit möglich.

Das Geschoss einer der infrage kommenden Tatwaffen zuzuordnen, mit welcher es abgefeuert wurde, bereitet meist keine größeren Schwierigkeiten, da die Verfeuerungsspuren am Projektil hierfür in aller Regel ausreichen. Kann die Tatwaffe dann noch einem Schützen zugeordnet werden, so ist die Beweiskette (Verletzung – Opfer – Tatwaffe – Täter) geschlossen, die für einen eindeutigen Nachweis erforderlich ist (Karger 2001).

Für den Fall der Durchsetzung unterschiedlicher Gewebearten beim Opfer kann eine Zuordnung der biologischen Spuren an den Geschossen also das bisher in solchen Fällen häufig fehlende Glied der oben genannten Beweiskette schließen und eine Zuordnung einzelner Schussverletzungen am Opfer zu den dafür verantwortlichen Tätern ermöglichen.

7 Glossar

Biotinyliert	Mit Biotin über eine kovalente Bindung gekoppelt
Chromogen	Farbstoff
Deformationsgeschoss	Ein Geschoss, welches nach dem Auftreffen auf das Ziel seine Form verändert und daher ein verändertes Energieabgabeverhalten im Ziel entwickelt (Beispiel: PEP Geschosse)
Durchschuss	Das Projektil durchschlägt den Körper (Ein- und Ausschuss) (Penning 2006)
Epitop	Der die Spezifität eines Antikörpers bestimmende Bereich eines Antigens (Noll 2000), hier kann ein spezifischer AK binden
Fangschuss	Schuss, mit dem ein verwundetes Tier zur Strecke gebracht werden soll
Faustfeuerwaffe	Waffe, die mit einer Hand abzufeuern ist (z.B. Pistole, Revolver)
Geschoss	Körper, der geschossen (beschleunigt) wird
Kinetische Energie	Beschreibt die Bewegungsenergie eines Geschosses und ist abhängig von der Sprengladung der Patrone sowie der Masse des Geschosses (m) ($E(\text{kin}) = 1/2 \cdot m \cdot V^2$)
Kugel	Aus der Jägersprache: Synonym für Geschoss
Magazinieren	Vorgang des Beladens des Magazins (meist einer Pistole) mit Patronen
Monoklonale AK	Identische AK, welche alle von Klonen einer einzelnen ursprünglichen Plasmazelle produziert werden und die sich gegen ein bestimmtes Epitop eines Antigens richten
Patrone	Zusammengesetzt aus Patronenhülse, Geschoss, Spreng-/Treibladung und ggf. noch weiteren

	Bestandteilen (s. Abbildung 1)
Polyklonale AK	Antikörper, welche sich gegen verschiedene Epitope eines bestimmten Antigens richten, die aber nicht nur von einem Plasmazellklon abstammen
Projektile	Synonym zu Kugel / Geschoss / Schusskörper
Schmauch	die Rückstände des Mündungsfeuers einer Schusswaffe, im Wesentlichen gebildet durch Verbrennungsprodukte des Anzündsatzes und der Treibladung der Munitionspatrone, vor allem in der Forensik auch als Schmauchspur bezeichnet
Sensitivität	Verhältnis aller als negativ erfassten Fälle eines Verfahrens zu allen wirklich negativen Fällen (Maß für die Empfindlichkeit)
Spezifität	Verhältnis aller als positiv erkannten Fälle einer Methode, eines Tests oder eines AK zu allen richtig positiven Fällen (Noll 2000)
Teilmantelgeschoss	Kern ist teilweise ummantelt, die Spitze des Geschosses allerdings nicht. Dies führt zur Deformierung bzw. in manchen Fällen sogar zur Zerlegung des Geschosses (Schwerd 1992)
Vortex	Schüttler für Reagenzgefäße und Tubes
Zerlegungsgeschoss	Teilmantelgeschoss, welches so konstruiert ist, dass es sich im Zielkörper in einzelne Splitter zerlegt und so möglichst 100 % seiner kinetischen Energie an den Körper abgibt

8 Literaturverzeichnis

- Amarapurkar AD, Rege JD, Joshi AS, Vaiphei K, Amarapurkar DN (2006) Utilization of antihepatocyte clone OCH1E5 (HepPar1) in histological evaluation of liver tumors. In: Indian J Pathol Microbiol. 49 (3): S. 341 - 344
- Azmak D, Altun G, Bilgi S, Yilmaz A (1998): Firearm fatalities in Edirne 1984 - 1997. In: Forensic Sci. Int. 95 (3): S. 231 - 239
- Baller O (2000): Neue Munition für die Polizei. Eine von Schein-/ Sachzwängen dominierte Diskussion. In: Bürgerrechte & Polizei: S. 70 - 78
- Brenner JC (2000): Forensic Science – An illustrated dictionary, CRC Press, New York
- Bundeskriminalamt (2007): Polizeiliche Kriminalstatistik 2006. Im Internet abgerufen am 4.10.2007, 22.30 Uhr unter: http://www.bundeskriminalamt.de/pks/pks2006/download/pks-jb_2006_bka.pdf
- Butler SL, Dong H, Cardona D, Jia M, Zheng R, Zhu H, Crawford JM, Liu C (2008) The antigen for HepPar1 antibody is the urea cycle enzyme carbamoyl phosphate synthetase 1. In: Lab Invest. 88 (1): S. 78 - 88
- Chapman S (1996): Guns don't die. People do. In: BMJ 313 (7059): S. 739 - 740
- Cardona M, García HI, Giraldo CA, López MV, Suárez CM, Corcho DC, Posada CH, Flórez MN (2005): Homicides in Medellin, Colombia, from 1990 to 2002: victims, motives and circumstances. In: Cad. Saude Publica 21 (3): S. 840 - 851
- Dahlberg LL, Ikeda RM, Kresnow MJ (2004): Guns in the home and risk of a violent death in the home – Findings from a national study. In: Am. J. Epidemiol. 160 (10): S. 1713 - 1724
- Damm HR (1996): Waffen und Munition für die Polizei. In: Schriftenreihe der Polizeiführungsakademie 4: S. 103 - 116
- Di Maio VJM, Dana SE, Taylor WE, Ondrusek J (1986): Use of Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive X-Ray Analysis (SEM-EDXA) in Identification of Foreign Material on Bullets. In: J. Forensic Sci. 32(1): S. 38 - 47

- Di Martino D, Giuffré G, Staiti N, Simone A, Le Donne M, Saravo L (2004 a): Single sperm cell isolation by laser microdissection. In: *Forensic Sci. Int.* 146S: S. 151 - 153
- Di Martino D, Giuffré G, Staiti N, Simone A, Todaro P, Saravo L (2004 b): Laser microdissection and DNA typing of cells from single hair follicles. In: *Forensic Sci. Int.* 146S: S. 155 - 157
- Dicke W (1999): Vollmantelgeschosse – Das doppelte Risiko. In: *Deutsche Polizei* 1: S. 6 - 9
- Diederichs O (1997): Polizeiliche Todesschüsse 1996. In: *Bürgerrechte & Polizei* 57: S. 75 - 78
- Fackler ML, Malinowski JA (1988): Ordnance gelatin for ballistic studies. Detrimental effect of excess heat used in gelatine preparation. In: *Am. J. Forensic Med. Pathol.* 9: S. 218 - 219
- Falahati A, Sharkey SW, Christensen D, McCoy M, Miller EA, Murakami, MA, Apple FS (1999): Implementation of serum cardiac troponin I as marker for detection of acute myocardial infarction. In: *Am. Heart J.* 137: S. 332 - 337
- Fan Z, van de Rijn M, Montgomery K and Rouse R V (2003): HepPar1 Antibody Stain for the Differential Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma - 676 Tumors Tested Using Tissue Microarrays and Conventional Tissue Sections. In: *Mod Pathol* 16 (2): S. 137 - 144
- Hall D, Fairley M (2004): A single approach to the recovery of DNA and firearm discharge residue evidence. In: *Sci. Justice* 2004, Vol. 44 No. 1: S. 15 - 19
- Hansen SH, Rossen K (1999): Evaluation of cardiac troponin I immunoreaction in autopsy hearts: a possible marker of early myocardial infarction. In: *Forensic Sci. Int.* 99: S. 189 - 196
- Huelke HH (1977): *Spurenkunde – Sicherung und Verwertung von Tatortspuren*, 4. Aufl., Kriminalistik, Heidelberg/Hamburg
- Janssen W (1977): *Forensische Histologie. Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik* (Bd. 10), Schmidt-Römhild, Lübeck
- Jussila J, Kjellström BT, Leppäniemi A (2005): Ballistic variables and tissue devitalisation in penetrating injury – establishing relationship through meta-analyses of a number of pig tests. In: *Injury* 36: S. 282 - 292

- Karger B, Meyer E, Knudsen PJT, Brinkmann B (1996 a): DNA typing of cellular material on perforating bullets. In: Int. J. Legal Med. 108: S. 177 - 179
- Karger B, Wissmann F, Gerlach D & Brinkmann B (1996 b): Firearm fatalities and injuries from hunting accidents in Germany. Int. J. Legal Med. 108: S. 252 - 255
- Karger B (2001): Forensische Ballistik von Schussverletzungen. In: Rechtsmedizin 11: S. 104 - 119
- Karger B, Billeb E, Koops E, Brinkmann B (2002): Autopsy features relevant for discrimination between suicidal and homicidal gunshot injuries. In: Int. J. Legal Med. 116 (5): S. 273 - 278
- Karger B (2004): Schussverletzungen. In Brinkmann B, Madea B (Hrsg.): Handbuch gerichtliche Medizin (Band 1): S. 593 - 682, Springer, Berlin
- Klups N (2003): Das Buch der Geschosse. 2. Aufl., nimrod, Hanstedt
- Knudsen PJT (1993): Cytology in ballistics – An experimental investigation of tissue fragments on full metal jacketed bullets using routine cytological techniques. In: Int. J. Legal Med. 106: S. 15 - 18
- Langer G (2004): Neue Polizeimunition. In: PVT k1106/04: S. 14 - 15
- Leistler MJ (2006): Tötungsdelikte durch Schusswaffen aus dem Sektionsgut der Rechtsmedizin Münster 1993 - 1999. Dissertation, Medizinische Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
- Lepik D, Vasiliev V (2005): Comparison of injuries caused by the pistols Tokarev, Makarov and Glock 19 at firing distances of 10, 15 and 25 cm. In: Forensic Sci. Int. 151: S. 1 - 10
- Linnmann M (2007): Schweinegelatine des Typs Pik-Ass: abgerufen am 5.10.2007 um 20.15 Uhr unter: www.aspik-pik-as.de
- Löffler G (2003): Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie, 5. Aufl., Springer, Heidelberg
- Lüer A (1999): Vollmantelgeschosse – Das doppelte Risiko. In: Deutsche Polizei 2: S. 4 - 5
- Maisel AS, Templin K, Love M & Clopton P (2000): A prospective study of an algorithm using cardiac Troponin I and myoglobin as adjuncts in the diagnosis of acute myocardial infarction and intermediate coronary syndromes in a veteran's hospital. In: Clin. Cardiol. 23: S. 915 - 920

- Nichols CA, Sens MA (1990): Recovery and evaluation by cytologic techniques of trace material retained on bullets. In: Am. J. Forensic Med. Pathol. 11(1): S. 17 – 34
- Nichols CA, Sens MA (1991): Cytologic Manifestations of Ballistic Injury. In: Am. J. Clin. Pathol. 95 (5): S. 660 - 669
- Noll S (2000): Praxis der Immunhistochemie. Hrsg.: Höfler H, Müller KM, Urban & Fischer, München
- Pang Y, von Turkovich M, Wu H, Mitchell J, Mount S, Taatjes D, Cooper K (2006) The binding of thyroid transcription factor-1 and hepatocyte paraffin 1 to mitochondrial proteins in hepatocytes – A molecular and immunoelectron microscopic study. In: Am J Clin Pathol. 125 (5): S. 722 - 726
- Pérez-Cárceles MD, Noguera J, Jiménez JL, Martínez P, Luna A, Osuna E (2004): Diagnostic efficacy of biochemical markers in diagnosis post-mortem of ischaemic heart disease. In: Forensic Sci. Int. 142: S. 1 - 7
- Penning R (2006): Rechtsmedizin systematisch, 2. Aufl., Uni-Med, Bremen/London/Boston
- Polizei Führungsakademie (PFA) (2001): Technische Richtlinie der Polizei für Patronen des Kalibers 9 mm. Hrsg.: Unterausschuss Führungs- und Einsatzmittel des Arbeitskreises II „Innere Sicherheit“ der Arbeitsgemeinschaft der Innenministerien der Länder: abgerufen am 23.06.2007 um 18 Uhr unter: www.pfa.nrw.de/PTI_Internet/pti-intern/WG/Regelungen/Munition/TRPatr9mmx19-09-01.pdf.html
- Pollak S (1982): Zur Makro- und Mikromorphologie der durch Faustfeuerwaffen erzeugten Einschusswunden. In: Gerichtl. Med. 40: S. 493 - 520
- Rammelsberg JO, Nowak R (1999): Fremdtötung durch Schuss. Eine Auswertung von 50 Tötungsdelikten unter Berücksichtigung der Trefferlokalisation. In: Arch. Kriminol. 203 (3-4): S. 65 - 72
- Rendle DF (2005): Advances in chemistry applied to forensic science. In: Chem. Soc. Rev. 34: S. 1021 - 1030
- Rosengart M, Cummings P, Nathens A, Heagerty P, Maier R, Rivara F (2005): An evaluation of state firearm regulations and homicide and suicide death rates. In: Inj. Prev. 11 (2): S. 77 - 83
- Schleyer F (Hrsg.) (1995): Humanbiologische Spuren: Sicherung, Nachweis und Analyse in Kriminaltechnik und forensischer Medizin, Kriminalistik, Heidelberg

- Scholzen R (2000): Neue Munition für die deutsche Polizei – Der Streit um Mann-Stopp-Wirkung und Durchschlagskraft einer polizeitypischen Munition. In: Kriminalistik 8: S. 556 - 561
- Schwerd W (1992): Rechtsmedizin – Lehrbuch für Mediziner und Juristen, 5. Aufl., Deutscher Ärzte, Köln
- Schyma C & Schyma P (1999): Das Verletzungspotential von Kartuschenmunition im Gelatinemodell. In: Rechtsmedizin 9: S. 210 - 214
- Shiran MS, Isa MR, Sherina MS, Rampal L, Hairuszah I, Sabariah AR (2006) The utility of hepatocyte paraffin 1 antibody in the immunohistological distinction of hepatocellular carcinoma from cholangiocarcinoma and metastatic carcinoma. In: Malays J Pathol. 28 (2): S. 87 - 92
- Sitiene R, Varnaite J, Zakaras A (2004): Complex investigation of body and clothing injuries during the identification of the assault instrument. In: Forensic Sci. Int. 146 (1): S. 59 - 60
- Smith OC, Harruff RC (1988): Evidentiary Value of the Contents of Hollow-Point Bullets. In: J. Forensic Sci. 33 (4): S. 1052 - 1057
- Stein KM, Bahner ML, Merkel J, Ain S, Mattern R (2000): Detection of gunshot residues in routine CTs. In: Int. J. Legal Med. 114: S. 15 - 18
- Stein KM, Wagner T, Ain S (2006): Zur Morphologie der Schussverletzungen bei Verwendung der Polizeimunition QD-PEP. In: Archiv für Kriminologie 218: S. 22 - 34
- Stevens A, Lowe J (1992): Histologie, Chapman & Hall, London
- Szibor R, Michael M, Plate I & Krause D (2000): Efficiency of forensic mtDNA analysis - Case examples demonstrating the identification of traces. In: Forensic Sci. Int. 113: S. 71 - 78
- Wehner F, Stiegler A, Schulz MM, Wehner HD, Martin D (2007): Immunzytochemische Untersuchungen biologischer Spuren an Tatklingen. In: Arch. Kriminol. 219: S. 180 - 190
- Wirth I, Strauch H (2000): Rechtsmedizin. Untertitel: Grundwissen für die Ermittlungspraxis, Kriminalistik, Heidelberg
- Zeichner A (2003): Recent developments in methods of chemical analysis in investigations of firearm-related events. In: Anal. Bioanal. Chem. 376: S. 1178 – 1191

9 Anhang

9.1 Legende zu Tabellen

Tabelle 9 – Legende zu Tabellen in Textteil und Anhang

Kürzel	Werte und Bedeutung
Nr.	Laufende Nummer der relevanten Präparate
Obj. Nr.	entspricht der Nr. des Objektträgers im Präparatekasten
Organ	spezifiziert das beschossene Organ Leber Herz L + H Schuss durch Leber und Herz
Aufbau	beschreibt den Versuchsaufbau (s. Kapitel 3.2) nur Organ Organe wurden an Bindfäden aufgehängt und beschossen in Gelatine Organe wurden in Gelatineblöcke gegossen und beschossen mit Haut Organe wurden mit Haut umwickelt und dann in Gelatineblöcke gegossen und beschossen

AK	<p>Färbungsverfahren mit entsprechendem Antikörper, der zur Markierung der Antigene verwendet wurde</p> <p>HP1 Anti-HepPar1 T. I Anti-Troponin I H (-) Markierung wie T. I, aber ohne Primär-AK (Auslasskontrolle) L (-) Markierung wie HP1, aber ohne Primär-AK (Auslasskontrolle) (-) (-) Wie Doppelfärbung, aber ohne Primär-AK (Auslasskontrolle)</p>
Kugel	<p>Geschossart</p> <p>PEP = Polizeieinsatzpatrone HSG = Hohlspitzgeschoss VMG = Vollmantelgeschoss</p>
Methodik	<p>beschreibt das angewendete Verfahren der Zellgewinnung</p> <p>Folie Spurensicherungsfolie der Polizei Abstrich Abstrichverfahren wie in Kapitel 3.3 näher erläutert</p>
F.-Nr.	<p>Fortlaufende Nr. der nacheinander durchgeführten Färbereien, jede mit mind. jeweils einer Positiv-/ Negativ- und Auslasskontrolle</p>
Erg.	<p>Gibt das Ergebnis der Auswertung an</p> <p>Positiv entspricht + Negativ entspricht -</p>

9.2 Versuchsergebnisse bei PEP-Geschossen

Tabelle 10 – Auswertung der Schussversuche auf Herzen

Nr.	Obj. Nr.	Organ	Aufbau	AK	Kugel	Methodik	Erg.
1	1	Herz	nur Organ	T. I	PEP	Folie	+
2	9	Herz	nur Organ	T. I	PEP	Abstrich	+
3	10	Herz	nur Organ	T. I	PEP	Abstrich	+
4	15	Herz	nur Organ	T. I	PEP	Abstrich	+
5	26	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
6	27	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
7	28	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
8	29	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
9	30	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
10	31	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
11	32	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
12	33	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
13	34	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
14	35	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
15	36	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
16	37	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
17	38	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
18	39	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
19	40	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
20	41	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
21	42	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
22	43	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
23	44	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
24	45	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
25	46	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
26	47	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
27	50	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
28	51	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
29	52	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
30	53	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
31	57	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
32	59	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
33	60	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
34	63	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
35	64	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
36	65	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
37	66	Herz	in Gelatine	T. I	PEP	Abstrich	+
38	68	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+
39	69	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+
40	70	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+
41	71	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+
42	72	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+
43	73	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+
44	74	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+
45	75	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+

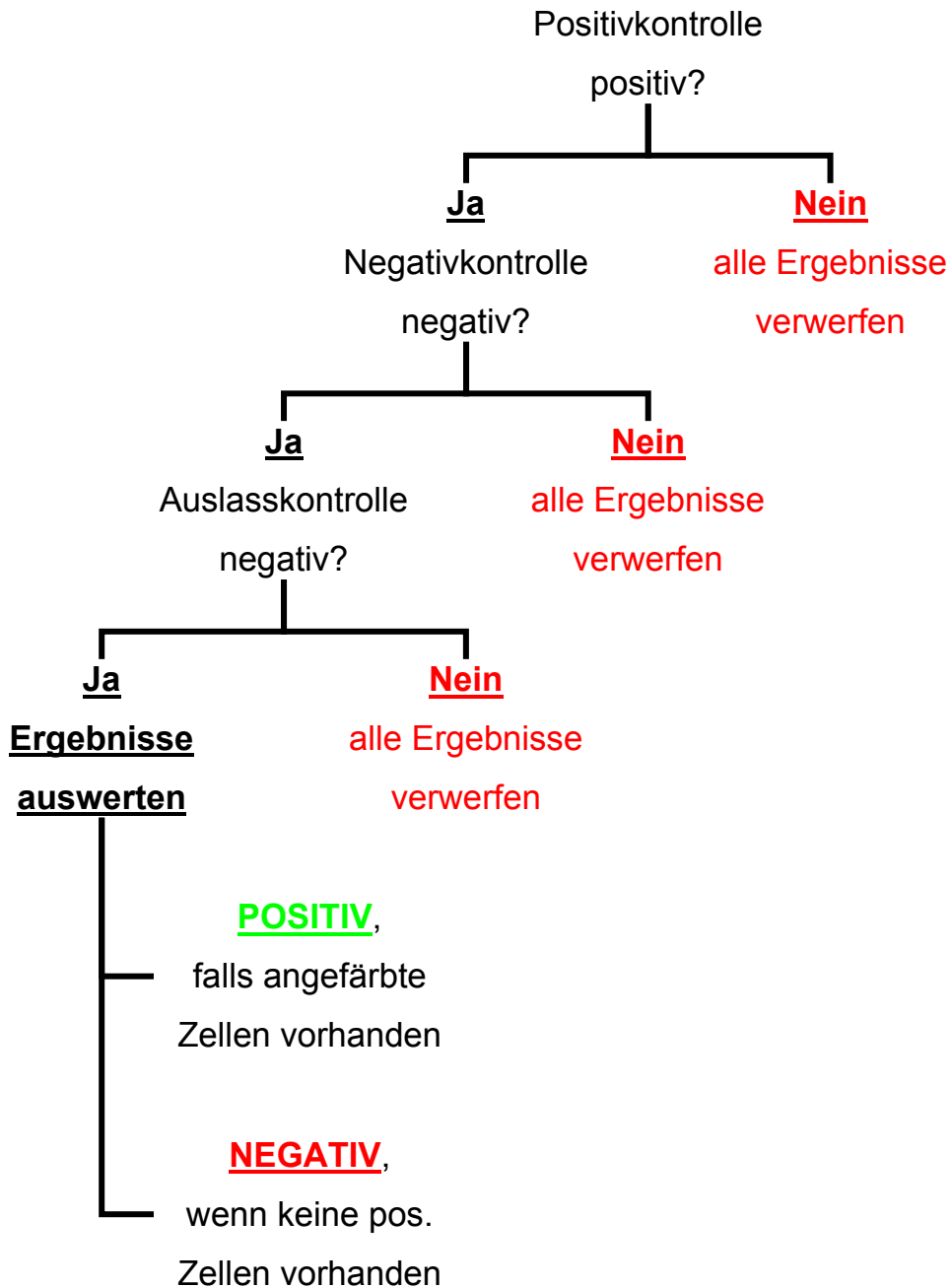
46	76	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+
47	77	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+
48	78	Herz	mit Haut	T. I	PEP	Abstrich	+

Tabelle 11 – Auswertung der Schussversuche auf Lebern

Nr.	Obj.Nr.	Organ	Aufbau	AK	Kugel	Methodik	Erg.
1	4	Leber	nur Organ	HP1	PEP	Folie	+
2	12	Leber	nur Organ	HP1	PEP	Abstrich	+
3	13	Leber	nur Organ	HP1	PEP	Abstrich	+
4	20	Leber	nur Organ	HP1	PEP	Abstrich	+
5	81	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
6	82	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
7	83	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
8	84	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
9	85	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
10	86	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
11	87	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
12	88	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
13	89	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
14	90	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
15	91	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
16	92	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
17	93	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
18	101	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
19	102	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
20	103	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
21	104	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
22	105	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
23	106	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
24	107	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
25	108	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
26	109	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
27	110	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
28	111	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
29	112	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
30	113	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
31	114	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
32	115	Leber	in Gelatine	HP1	PEP	Abstrich	+
33	130	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
34	131	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
35	132	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
36	133	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+

37	134	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
38	135	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
39	136	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
40	137	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
41	138	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
42	139	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
43	140	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
44	141	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
45	142	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
46	143	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
47	144	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
48	145	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
49	146	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
50	147	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
51	148	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
52	149	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
53	150	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
54	151	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
55	152	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
56	153	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+
57	154	Leber	mit Haut	HP1	PEP	Abstrich	+

9.3 Auswertungsschema



9.4 Färbungsvorschriften

9.4.1 Allgemeine Vorschriften:

Alle Inkubationsschritte sollten in einer feuchten Kammer durchgeführt werden, um eine Austrocknung der Präparate zu vermeiden. Vor Zusatz der einzelnen Antikörper müssen Pufferreste sorgfältig abgeklopft und evtl. zusätzlich mit Zellstoff vorsichtig von den Präparaten abgesaugt werden.

Nachdem die Zellen und Gewebereste (falls vorhanden) in der wie in Punkt 3.3 beschriebenen Art und Weise von den Geschossen auf die Objektträger gebracht und getrocknet worden sind, können sie unmittelbar im Anschluss nach den nachfolgend beschriebenen Färbeprotokollen markiert und gefärbt werden. Aufgrund der beschränkten Haltbarkeit der nachzuweisenden Antigene empfiehlt es sich die Färbungen zeitnah (am besten binnen 24 h) durchzuführen. Ist dies nicht möglich, so sollten die Objektträger zumindest bei ca. 4 °C gelagert werden, bis die Färbungen vorgenommen werden können.

Bei jeder Färbung ist zumindest eine Positiv- und eine Negativ-/Auslasskontrolle parallel mitzuführen.

9.4.2 Nachweis Troponin I an Nativ-Material (LSAB-Methode)

Verwendete Reagenzien:

Blocking-Reagenzien:

- Biotin - Blocking System (Fa. Dako)
- Dualblock (Fa. Dako)
- 3 % BSA in TBS

Wasch- bzw. Pufferlösungen / Verdünnungsmedien:

- PBS-Puffer 1 Molar pH 7,2: eigene Herstellung, verwendet zum Lösen der Zellen im Abstrichverfahren

- TBS-Puffer: eigene Herstellung
- TBST-Puffer: Verdünnung aus vorrätigem Konzentrat
- Verdünnungsmedium für AK: 1 % BSA in TBS

Verwendete AK:

- Primär-AK: (1:200 verdünnt in 1 % BSA in TBS)
 - Monoclonal Mouse Anti Cardiac Troponin I Ig G1 [2D5] (Fa. Dako)
- Sekundär-AK: (1:200 verdünnt in 1 % BSA in TBS)
 - Kaninchen Anti Mouse biotinyliert (Fa. Dako)
- Negativkontrolle: Mouse Ig G1 (Fa. Dako)

Sonstige Reagenzien:

- Streptavidin-HRP (Fa. Dako)
- Chromogen: DAB+ (Diaminobenzidin)
- Hämatoxylin zur Gegenfärbung

Färbevorschrift:

1. Anfeuchtung:

Die Zellen auf der Spurensicherungsfolie bzw. auf den Objektträgern zunächst für 7 min. in destilliertes Wasser (Im Folgenden: Aqua dest.) einbringen.

2. Avidin-/ Biotin-Blockierung:

jeweils Flasche 1 und Flasche 2 des Biotin-Blocking Systems der Fa. Dako für 10 min in der feuchten Kammer einwirken lassen, danach abklopfen

3. Spülen mit TBS-Puffer

zweimaliges Spülen in TBS-Puffer für jeweils 5 min.

4. Dualblock

Inkubation der Schnitte für 20 min mit jeweils 100 µl der Blockierungslösung bei Raumtemperatur, um eine unspezifische Bindung der Antikörper zu unterbinden.

5. Waschen mit TBST-Puffer

Einbringen (Waschen) der Schnitte für 5 min in TBST-Puffer, danach Wiederholung dieses Vorgangs in neuer Lösung für weitere 5 min.

6. 3 % BSA in TBS

Inkubation der Schnitte mit jeweils 100 µl 3%igem BSA in TBS für 15 min. (bei frischen Zellen kann auch 1%iges BSA in TBS verwendet werden)

7. Monoclonal Mouse Anti Cardiac Troponin I Ig G1 [2D5] / Mouse Ig G1-AK (Negativkontrolle)

Inkubation der Zellen für 30 min. bei 37 °C mit einer 1:200 in 1 % BSA in TBS verdünnten Lösung des oben genannten Primär-AK (**Auslasskontrolle:** Mouse Ig G1-AK in entsprechender 1:200 Verdünnung statt Primär-AK).

Alternativ ist auch eine Inkubation über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank möglich.

8. Waschen (analog zu Punkt 5)

9. Kaninchen-Anti-Mouse AK biotinyliert

Inkubation der Zellen mit dem ebenfalls 1:200 in 1 % BSA in TBS verdünntem, konjugiertem Sekundär-AK bei 37 °C für 20 min.

10. Waschen (analog zu Punkt 5)

11. Streptavidin-HRP

Inkubation der Zellen mit Streptavidin-HRP in der feuchten Kammer für 15 min.

12. Einmaliges Spülen in TBST-Puffer für 5 min., anschließend noch einmal für 5 min. in TBS-Puffer. Währenddessen Chromogenmischung (DAB+) herstellen (s. Punkt 13).

13. Chromogen: DAB+

Inkubation der Zellen mit der frisch angesetzten Chromogenmischung für 6 min.

14. Zweimaliges Spülen der Zellen mit Aqua dest. für jeweils 5 min.

15. Gegenfärbung mit Hämatoxylin für 2 min., anschließend unter fließendem Leitungswasser für 7 min. bläuen

16. Eindeckeln der Abstrichpräparate mit Glyceringelatine

Eine positive Reaktion ist an einer bräunlichen Färbung im Bereich des Antigens zu erkennen.

9.4.3 Nachweis HepPar1 an Nativ-Material (LSAB-Methode)

Verwendete Reagenzien:

Blocking-Reagenzien:

- Biotin-Blocking System (Fa. Dako)
- Dualblock (Fa. Dako)
- 3 % BSA in TBS

Wasch- bzw. Pufferlösungen / Verdünnungsmedien

- PBS-Puffer 1 Molar pH 7,2: eigene Herstellung, verwendet zum Lösen der Zellen im Abstrichverfahren
- TBS-Puffer: eigene Herstellung
- TBST-Puffer: Verdünnung aus vorrätigem Konzentrat
- Verdünnungsmedium für AK: 1 % BSA in TBS

Verwendete AK:

- Primär-AK: (1:200 verdünnt in 1 % BSA in TBS)
 - Monoclonal Mouse Anti Human Hepatocyt Clone OCH1E5 Ig G1 kappa (Fa. Dako)
- Sekundär-AK: (1:200 verdünnt in 1 % BSA in TBS)
 - Kaninchen Anti Mouse biotinyliert (Fa. Dako)
- Negativkontrolle: Mouse Ig G1 (Fa. Dako)

Sonstige Reagenzien:

- Streptavidin-AP (Fa. Dako)
- Chromogen: Fuchsin
- Hämatoxylin zur Gegenfärbung

Färbevorschrift:

Bei der Färbung zum Nachweis von HepPar1 kann mit zwei Ausnahmen analog zur Färbevorschrift in Abschnitt 9.4.2 verfahren werden. Diese ergeben sich aus der Verwendung eines unterschiedlichen Primär-AK, sowie eines anderen Biotin-Detektionssystems bestehend aus einem anderen Streptavidin-Enzym-Konjugates (Streptavidin-AP), sowie eines anderen Chromogens (Fuchsin). Dies soll vor allem die Möglichkeit von Doppelfärbungen eröffnen, wie in Abschnitt 9.4.4 näher erläutert wird.

Infolgedessen ergeben sich Änderungen bei den nachfolgenden Punkten:

(Punkte 1. - 6. analog zu Abschnitt 9.4.2)

7. Monoclonal **Mouse Anti Human Hepatocyt** Clone OCH1E5 Ig G1 kappa / Mouse Ig G1-AK (Negativkontrolle)

Inkubation der Zellen für 30 min. bei 37 °C mit einer 1:200 in 1 % BSA in TBS verdünnten Lösung des oben genannten Primär-AK (**Auslasskontrolle:** Mouse Ig G1-AK in entsprechender 1:200 Verdünnung statt Primär-AK).

Alternativ ist auch hier eine Inkubation über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank möglich.

(Punkte 8. - 10. analog zu Abschnitt 9.4.2)

11. Streptavidin-AP

Inkubation der Zellen mit Streptavidin-AP in der feuchten Kammer für 15 min.

12. Einmaliges Spülen in TBST-Puffer für 5 min., anschließend noch einmal für 5 min. in TBS-Puffer. Währenddessen Chromogenmischung herstellen (s. Punkt 13).

13. Chromogen: Fuchsin

Inkubation der Zellen mit der frisch angesetzten Chromogenmischung für 12 min.

(Punkte 14. - 16. analog zu Abschnitt 9.4.2)

Eine positive Reaktion ist an einer rötlichen Färbung im Bereich des Antigens zu erkennen.

9.4.4 Doppelfärbung auf Troponin I und HepPar1 an Nativ-Material

Die Doppelfärbung ist im Prinzip eine Aneinanderreihung beider zuvor erläuterten Einfachfärbungen unter Verwendung zweier unterschiedlicher Detektionssysteme zur späteren Unterscheidung der beiden verschiedenen, dabei entstehenden Antigen-Antikörper-Komplexe. Die Färbungen sind weitgehend analog zu den zuvor beschriebenen, es ergeben sich lediglich ein paar leichte Variationen der beschriebenen Vorschriften, welche nachfolgend kurz aufgezeigt werden sollen.

Verwendete Reagenzien:

Blocking-Reagenzien:

- Biotin-Blocking System (Fa. Dako)
- Dualblock (Fa. Dako)
- 3 % BSA in TBS

Wasch- bzw. Pufferlösungen / Verdünnungsmedien

- PBS-Puffer 1 Molar pH 7,2: eigene Herstellung, verwendet zum Lösen der Zellen im Abstrichverfahren
- TBS-Puffer: eigene Herstellung
- TBST-Puffer: Verdünnung aus vorrätigem Konzentrat
- Verdünnungsmedium für AK: 1 % BSA in TBS

Verwendete AK:

- 1. Primär-AK: (1:200 verdünnt in 1 % BSA in TBS)
 - Monoclonal Mouse Anti Human Hepatocyt Clone OCH1E5 Ig G1 kappa (Fa. Dako)
- 2. Primär-AK: (1:200 verdünnt in 1 % BSA in TBS)
 - Monoclonal Mouse Anti Cardiac Troponin I Ig G1 [2D5] (Fa. Dako)
- Sekundär-AK: (1:200 verdünnt in 1 % BSA in TBS)
 - Kaninchen Anti Mouse biotinyliert (Fa. Dako)
- Negativkontrolle: Mouse Ig G1 (Fa. Dako)

Sonstige Reagenzien:

- Streptavidin-AP (Fa. Dako)
- Streptavidin-HRP (Fa. Dako)
- Chromogen: DAB+ (Diaminobenzidin)
- Chromogen: Fuchsin
- Hämatoxylin zur Gegenfärbung

Färbevorschrift:

Punkte 1. - 13. analog zu Abschnitt 9.4.2

Anschließend:

Punkte 7. - 16. analog zu Abschnitt 9.4.3

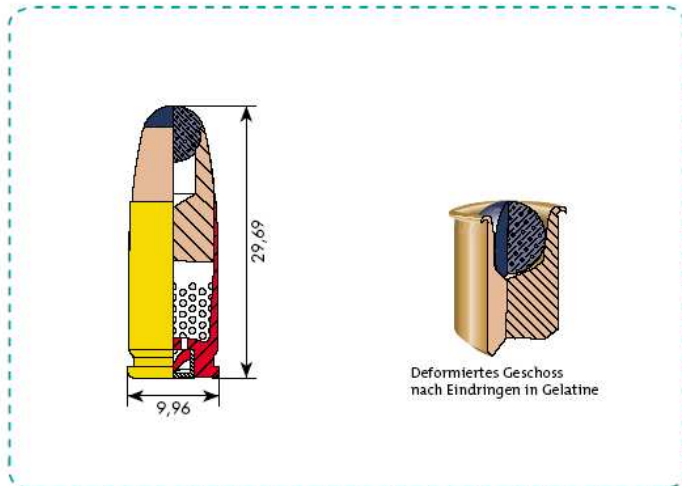
9.5 Datenblatt der QD-PEP (Fa. MEN)

QD
PEP

Polizei-Einsatz-Patrone QD-PEP
9 mm x 19, schadstoffarm
Artikel-Nr. 230285



9mm
x19



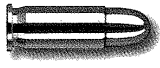







Technische Daten:

Masse der Patronenhülse:	3,85 g (59 grs)	Ausziehkraft:	≥ 300 N
Geschossmasse:	5,9 g (90 grs)	P_{max}:	≤ 2.700 bar
Treibladungsmasse:	ca. 0,50 g (8 grs)	Geschoss-geschwindigkeit:	$v_3 = 420 \pm 15$ m/s
Patronenmasse:	ca. 10,25 g (158 grs)	Länge des Messrohres:	gemäß Technischer Richtlinie 100 mm
Material der Patronenhülse:	Messing		
Material des Geschosses:	Tombak		
Geschosstyp:	Deformationsgeschoss		
Treibladungspulver:	einbasig oder zweibasig		
Anzündhütchen:	Boxer, schadstoffarm		

Eindringtiefe in 20 %ige Gelatine: min. 20 cm, max. 30 cm. Energieabgabe max. 60 J/cm. Eindringtiefe in mit PVC-beschichtetem Polyestergerewebe bedeckter Gelatine: max. 30 cm. Keine Geschosszerlegung.

Technische Änderungen vorbehalten.

9.6 Datenblatt der Geco VM-Munition (Fa. Ruag Ammotec Fürth)

Bestell-Nr.	Kaliber	Geschoss	Geschoss- gewicht g	Zündung	Lauf- länge (mm)	Fluggeschwindigkeit (m/s)				Aufreffenergie (J)				Einzel- packg.
						V_0	V_{10}	V_{25}	V_{50}	E_0	E_{10}	E_{25}	E_{50}	
GECO-Pistolenpatronen														
212 32 07		6,35 mm Vollmantel-Rundkopf	3,2	Amboss	60	208	205	201	193	69	67	65	60	50
212 32 15		7,65 mm Vollmantel-Rundkopf	4,7	Amboss	100	325	320	313	301	248	241	230	213	50
212 55 36		7,65 mm Vollmantel-SX Rundkopf	4,7	Amboss	100	325	320	313	303	248	241	230	216	50
231 48 45		9 mm Blei verkupfert, Luger kunststoffbeschichtet	7,85	Amboss	125	360	350	336	318	509	481	443	397	50
231 48 43		9 mm Vollmantel-Luger Rundkopf	8,0	Amboss	125	360	350	337	319	518	490	454	407	50
231 48 39		9 mm Vollmantel-Luger SX Rundkopf	8,0	Amboss	125	360	350	337	319	518	490	454	407	50
231 38 35		.40 S&W Vollmantel-Kegelstumpf	11,02	Amboss	125	355	340	330	305	693	636	599	512	50
212 32 23		.45 Vollmantel-Auto Rundkopf	14,9	Amboss	125	262	260	256	250	511	504	488	466	50

9.7 Bildbeilage

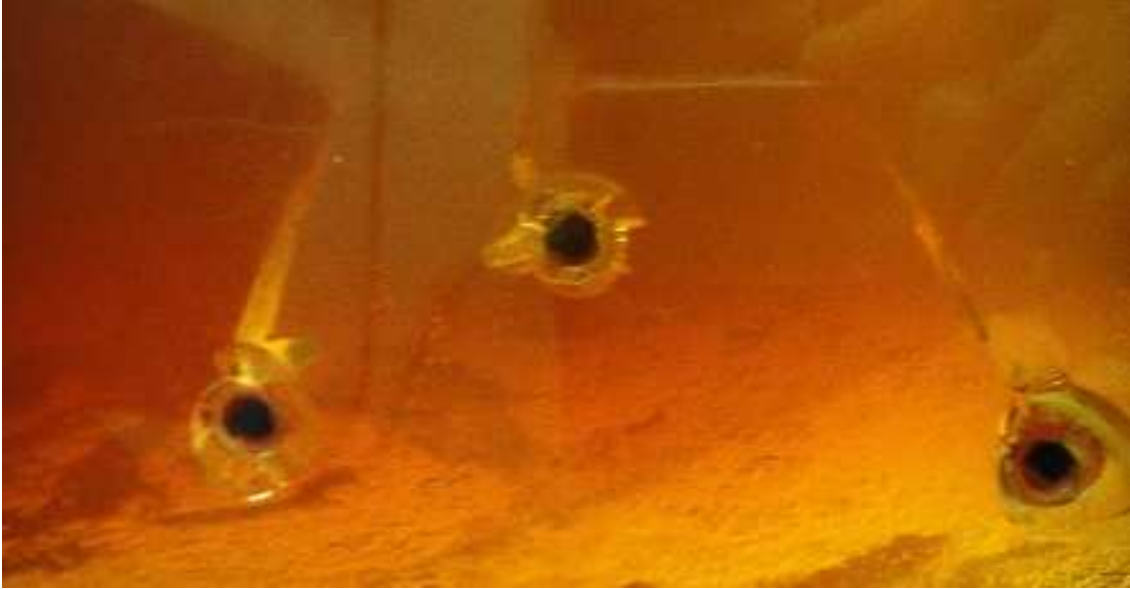


Abbildung 17 – PEP-Geschosse im Gelatineblock mit Schusskanal



Abbildung 18 – Beschossenes Herz (1 Treffer, 2 Fehlversuche)



Abbildung 19 – Kugel mit makroskopisch sichtbaren biologischen Spuren im Gelatineblock



Abbildung 20 – Kugel mit makroskopisch sichtbaren Zellen nach Entfernung aus dem Gelatineblock im Labor



Abbildung 21 – Die verwendeten Geschosse nach Beschuss eines Gelatineblocks und Entfernung aus Selbigem (v.l. PEP, HSG, VMG)



Abbildung 22 – Kügelchen eines PEP-Geschosses am Boden eines Gelatineblocks, an dem das Geschoss durch eine Spanplatte abgelenkt wurde



Abbildung 23 – Splitter eines HSG, welcher sich vom Geschoss löste

10 Danksagung

Hiermit möchte ich einigen Personen danken, die wertvolle Beiträge zur Erstellung dieser Arbeit geleistet haben bzw. die Versuche in der gegebenen Form überhaupt erst ermöglicht haben:

Gedankt sei zunächst **Prof. Dr. H.-D. Wehner** für die großzügige Bereitstellung von Räumlichkeiten und notwendigen Materialien für die Durchführung der Arbeit im Institut für Gerichtliche Medizin an der Universität Tübingen.

Besonderer Dank gilt ferner **Priv.-Doz. Dr. Frank Wehner** für die exzellente Betreuung bei der Durchführung, Auswertung und Erstellung dieser Arbeit sowie für die hilfreichen Hinweise und Verbesserungsvorschläge.

Herrn **Prof. Dr. K. Dietz** danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse.

Der **Landespolizeidirektion Tübingen** sei für die tatkräftige und zielsichere Unterstützung bei den Schussversuchen sowie das zur Verfügung stellen des polizeilichen Schießstandes gedankt.

Darüber hinaus danke ich **meinen Eltern**, die mich stets in jeglicher Hinsicht unterstützt haben und die mir meinen Jagdschein finanziert haben, ohne den ich eine solche Arbeit wohl nie begonnen hätte und welcher mir die Durchführung aufgrund meiner Erfahrungen im Umgang mit Munition und Schusswaffen enorm erleichtert hat.

Außerdem sei **Frau Kelch** für die fleißige Mithilfe beim Gießen der schier unzähligen Gelatineblöcke gedankt, den Mitarbeitern des **MEGA-Schlachthofes** für das unkomplizierte Überlassen der Versuchsorgane, der Firma **Dynamit Nobel AG** sowie der Firma **RUAG Ammotec** (insb. Herrn Dowidat) für die Überlassung von internen Dokumentationen, sowie Herrn **Ingo Wirth** für die Bereitstellung von Ergebnissen und Bildmaterial zu eigenen Schussversuchen auf Gelatineblöcke.

11 Lebenslauf

08/1988 - 07/1992	Domsingschule (Grundschule) (Aachen)
08/1992 - 07/1998	Bischöfliches Pius-Gymnasium (Aachen)
08/1998 - 09/1998	Privatunterricht in Spanisch (Bogotá, CO)
09/1998 - 08/1999	Framlingham College, NR Woodbridge, Suffolk (Framlingham, GB) <i>(A-Levels: Spanish, Economics, Mathematics)</i>
08/1999 - 05/2001	Bischöfliches Pius-Gymnasium (Aachen) <i>(Erwerb der allg. Hochschulreife inkl. Latinum)</i>
09/2001 - 05/2002	Zivildienst mit Ausbildung zum staatlich anerkannten Rettungssanitäter beim Malteser Hilfsdienst e.V. (Aachen)
WS 02/02 - SS 2005	Studium der Humanmedizin (RWTH-Aachen) <i>(Physikum Herbst 2004)</i>
SS 2003 - WS 07/08	Studium der Betriebswirtschaftslehre (Fernuniversität in Hagen) <i>(Dipl.-Kfm. seit 02/2008)</i>
WS 05/06 - SS 2008	Studium der Humanmedizin (Eberhard-Karls-Universität Tübingen) <i>(Ärztliche Prüfung 10/2008)</i>
08.11.2006	Zulassung zum Promotionsverfahren (Eberhard-Karls-Universität Tübingen)