

Aus der Wissenschaftlichen Abteilung des Instituts
für experimentelle Krebsforschung in Heidelberg.

Beobachtungen über den schwachen N-Receptor.

Von
ERNST KRAH.

(Eingegangen am 26. Januar 1948.)

In der Regel läßt sich das Merkmal N im menschlichen Blut bei Verwendung streng spezifischer und hinreichend wirksamer Gebrauchsseren mit Hilfe des Agglutinations- und Absorptionsversuches ohne Schwierigkeit nachweisen. Auch die Abschwächung, die der normale N-Receptor unter Umständen erleiden kann, bringt im allgemeinen keine Behinderung seiner Nachweisbarkeit mit sich, wenn den Anforderungen entsprechende Testseren zur Untersuchung benutzt werden. Anders liegen die Verhältnisse aber, wenn es sich um vom Normal-N abweichende, primär besonders schwach ausgebildete oder defekte N-Receptoren handelt, wie sie in den letzten Jahren verschiedentlich beschrieben worden sind.

Der als erster von CROME¹ mitgeteilte, zunächst nicht sicher nachgewiesene schwache N-Fall wurde später eindeutig erkannt (PIETRUSKY^{2, 3}). Weitere, vom Normalfall abweichende N-Receptoren wurden dann von FRIEDENREICH⁴ und von LAUER⁵ sowie kürzlich an 4 neuen Fällen von PIETRUSKY⁶ mitgeteilt. Die außerdem noch von DOMBROWSKY⁷, LANGENBERG⁸ und japanischer Seite (zit. nach LANGENBERG⁸ und DAHR⁹) beobachteten Fälle seien nur der Vollständigkeit halber erwähnt; genaue und vor allem stichhaltige Untersuchungen sind darüber nicht bekannt geworden.

Diese abweichenden N-Receptoren, für die die allgemeine Bezeichnung „defektes N“⁵ oder der Sammelbegriff „schwaches N (N_s)“⁶ vorgeschlagen worden ist, sind durch eine im ganzen meist ziemlich stark herabgesetzte, im einzelnen aber sehr unterschiedliche Reaktionsfähigkeit charakterisiert. Durch N-Abgüsse von der üblichen Wirksamkeit werden Blutkörperchen des defekten N-Typs vielfach nicht oder nur sehr schwach agglutiniert; in manchen Fällen erweisen sich schwächere Abgüsse noch als wirksam, während höherwertige gelegentlich im Stiche lassen können. Mit mindestens 8stufigen Gebrauchsseren ist der schwache N-Receptor immer nachzuweisen⁶. Der Absorptionsversuch in der üblichen Technik liefert kein eindeutiges Ergebnis; bei optimalem Verhältnis zwischen Abgußwirkung und Absorptionsblutmenge soll dagegen eine gewisse Wirkung des schwachen N zu erkennen

sein^{4, 5}; im allgemeinen eignet sich jedoch die Agglutination zu seiner Erkennung besser als die Absättigung⁵.

Infolge der Schwierigkeit der Gewinnung von Testseren und Abgüssen, deren Wirkungsstärke für den Nachweis des schwachen N ausreicht, sind verschiedene andere Bestimmungsverfahren ausgearbeitet worden^{2, 3}. Ihnen gegenüber hat es nicht an Kritik gefehlt^{10, 11}, wobei insbesondere auf die Gefahren der Unspezifität und der Kälteagglutination, aber auch auf die der abnormen Empfindlichkeit einzelner Blutproben sowie der Interferenz von in N-Abgüssen möglicherweise verbliebenen schwachen Anti-A-Agglutininen hingewiesen worden ist.

Wenn nachstehend über einige Beobachtungen an Blutproben mit schwachem N-Receptor berichtet wird, so sind bei ihrer Untersuchung die genannten Fehlerquellen nach Möglichkeit von vornhinein vermieden worden.

Die benutzten Testseren waren durch Immunisierung mit ON-Blutkörperchen von solchen Kaninchen gewonnen worden, die keine unspezifischen Anti-A-Agglutinine zu bilden vermögen (FISCHER und KRAH¹²). Die Reinigung der Seren geschah mit M-Mischblut verschiedener Blutgruppen, um außer den artspezifischen auch etwaige sonstige Heteroagglutinine sicher zu entfernen. Alle Untersuchungen wurden mittels der Röhrchenmethode im Brutschrank ausgeführt. Die Spezifität der Abgüsse wurde sowohl durch mehrere M-Kontrollen als auch mittels Überprüfung der Befunde durch nachträgliches Zentrifugieren bzw. mehrstündigen Aufenthalt bei Zimmertemperatur sichergestellt.

Der erste Fall betraf einen erwachsenen Mann, dessen Blutkörperchen mit verschiedenen, teils älteren, teils frischen M- und N-Abgüssen mehrfach untersucht wurden; die verwendeten Abgüsse waren spezifisch und besaßen einen Titer von mindestens $1/16$. Dabei ergab sich im M-Abguß stärkste Agglutination, in den N-Abgüssen fiel diese meist schwächer aus als die der N- und MN-Kontrollen oder war völlig negativ. Im allgemeinen reagierten die N-Abgüsse mit höherem Titer stärker; das war jedoch nicht ausnahmslos der Fall, denn von zwei 6stufigen Abgüssen wurde der N-Receptor nicht erfaßt, während in einem anderen 5stufigen Abguß eine deutliche Agglutination zu verzeichnen war. Eine dem normalen MN entsprechende oder noch stärkere Reaktion des schwachen N wurde mit keinem Abguß beobachtet. Die Auswertung der positiv reagierenden Abgüsse in fallenden Mengen zeigte eine Agglutination der fraglichen Blutkörperchen je nach dem geprüften Abguß bis zur 2—8fachen Abgußverdünnung bei völlig negativen M-Kontrollen; nachstehend sei einer dieser Versuche wiedergegeben, wobei — wie auch in allen folgenden — je

0,1 cm³ Abgußverdünnung und 0,1 cm³ 1% iger Blutkörperchen-suspension mit 1stündigem Aufenthalt bei 37° zur Anwendung kamen.

Tabelle 1.

Anti-N-Abguß 1:	Agglutination durch							
	1	2	4	8	16	32	64	128
+ Blutkörperchen M .	—	—	—	—	—	—	—	—
+ Blutkörperchen N .	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	+
+ Blutkörperchen MN	+++	++	+++	+++	++	+	±	—
+ Blutkörperchen MN _s	+++	++(+)	+(+)	±	—	—	—	—

Der mit verschiedenen positiv reagierenden Abgüssen ausgeführte Absorptionsversuch fiel stets gleichsinnig aus, und zwar ergab sich hinsichtlich der Absorptionsfähigkeit der fraglichen Blutkörperchen eine Mittelstellung zwischen normalen M- und normalen MN-Blutkörperchen; die Senkung des Titters durch das schwache N betrug bezüglich der Röhrchenzahl immer etwa die Hälfte der durch normales MN-Blut bedingten, wobei die Wirkungsstärke des Abgusses und dessen völlige oder unvollständige Erschöpfung durch normales MN-Blut jeweils ohne Bedeutung war. Der folgende Versuch mag das veranschaulichen.

Tabelle 2.

Agglutination von N-Blutkörperchen durch							
Anti-N-Abguß 1:	1	2	4	8	16	32	64
Unabsorbiert	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
Nach { + 0,15 M	+++	+++	+++	+++	+++	++	±
Absorption { + 0,15 MN	+	—	—	—	—	—	—
von 0,4 { + 0,15 MN _s	+++	+++	++	—	—	—	—

Man kann nicht gut annehmen, daß diese Titerensenkung durch das MN_s-Blut auf eine unspezifische Absorption zurückzuführen ist. Die Verwendung derartiger schwacher MN-Blutkörperchen zur Herstellung eines spezifischen Anti-N-Abgusses müßte theoretisch bewirken, daß das so gewonnene Gebrauchsserum einen niedrigeren N-Titer aufweist, als es bei der Absorption mit dem gleichen Volumen M-Blut der Fall ist. Der ausgeführte Versuch zeigte aber, daß sich aus einem 6stufigen Rohserum ohne weiteres ein 6stufiger Abguß gewinnen ließ, wozu allerdings eine deutlich größere Menge MN_s-Sediment gegenüber der sonst notwendigen erforderlich war. Der schwache N-Receptor wirkte sich bei der Absorption des Rohserums demnach nicht aus, die Bindungskraft des M-Receptors erwies sich aber als abgeschwächt (vgl. die gleiche Feststellung LAUERS⁵⁾).

Bei der zweiten Beobachtung handelt es sich um einen 9jährigen Knaben, bei dessen Mutter mit 9 verschiedenen 6—9stufigen Anti-

N-Abgüssen ein N-Faktor im Blut nicht festzustellen war; das Kind hatte die Bluteigenschaften OMN_s. Die Blutprobe wurde mehrmals mit zahlreichen Anti-N-Abgüssen im Agglutinationsversuch, zum Teil mit Auswertung, und im Absorptionsversuch untersucht. Die meisten Seren zeigten den schwachen N-Receptor deutlich an, ohne daß sich die positive Reaktion nur auf die mehr als 5stufigen Abgüsse beschränkt hätte; in drei 6—7stufigen Seren, von denen nur eins frisch hergestellt worden war, war die Agglutination verhältnismäßig schwach (\pm bis $+$). Ein frisch gewonnener 5stufiger und zwei ältere 8- und 9stufige Abgüsse erfaßten den defekten Receptor überhaupt nicht. Die Auswertung eines Teiles der positiv reagierenden Anti-N-Abgüsse ergab bei negativen M-Kontrollen eine Agglutination der MN_s-Blutkörperchen von der 2—8fachen Serumverdünnung; die Stärke dieser Reaktion richtete sich keineswegs immer nach dem Gesamttiter des betreffenden Serums, denn in 6stufigen Abgüssen konnte unter Umständen eine intensivere Reaktion als in wirksameren Seren festgestellt werden. Ein dem normalen MN entsprechendes Verhalten, also die Agglutination der MN_s-Blutkörperchen bis zur Titergrenze wurde bei den benutzten Anti-N-Abgüssen ebensowenig beobachtet wie eine stärkere Zusammenballung. Wir lassen 2 Versuchsprotokolle folgen.

Tabelle 3.

Anti-N-Abguß 1:	Agglutination durch					
	1	2	4	8	16	32
+ Blutkörperchen M	—	—	—	—	—	—
+ Blutkörperchen N	+++	+++	+++	++	+	\pm
+ Blutkörperchen MN	+++	+++	+++	+	\pm	—
+ Blutkörperchen MN _s	+++	+++	++	\pm	—	—

Tabelle 4

Anti-N-Abguß 1:	Agglutination durch							
	1	2	4	8	16	32	64	128
+ Blutkörperchen M	—	—	—	—	—	—	—	—
+ Blutkörperchen N	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
+ Blutkörperchen MN	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
+ Blutkörperchen MN _s	++	+	\pm	—	—	—	—	—

Der Absorptionsversuch wurde an vier, zu verschiedenen Zeiten entnommenen Proben im ganzen mit 9 Anti-N-Abgüssen ausgeführt. Bei einigen dieser Versuche war kein eindeutiges Resultat zu erzielen, da aus Materialmangel die Absorptionsblutmenge verringert werden mußte; in diesen Fällen trat zwar eine stärkere Titer senkung als durch M-Blut ein, doch reichte sie nicht aus, um für spezifisch gehalten zu werden. Mit zwei anderen Anti-N-Abgüssen, von denen der eine

das schwache N deutlich und der andere das N_s nicht erfaßt hatte, zeigte der Absättigungsversuch ebenfalls nur eine unvollständige Titerminderung im Gegensatz zur MN-Kontrolle. Mit den vier übrigen Anti-N-Abgüssen ergab der Absorptionsversuch aber eine völlige Erschöpfung, wie sie auch durch normales MN-Blut in gleicher Menge herbeigeführt wurde; diese Abgüsse waren mindestens 6stufig und hatten bei der direkten Agglutination das schwache N deutlich angezeigt. Als Beispiel geben wir den Versuch, in den auch das M-Blut der Mutter einbezogen worden war.

Tabelle 5.

Agglutination von N-Blutkörperchen durch						
Anti-N-Abguß 1:	1	2	4	8	16	32
Unabsorbiert	+++	+++	+++	+++	+++	+
Nach 0,15 M	+++	+++	+++	+++	+++	±
Absorption 0,15 MN	—	—	—	—	—	—
von 0,4 mit 0,15 MN_s	—	—	—	—	—	—
0,15 Mutter	+++	+++	+++	+++	+	±

Die beiden beschriebenen N_s -Beobachtungen stimmen im großen und ganzen mit den bisher bekanntgewordenen schwachen N-Fällen überein, soweit bei der Verschiedenheit der benutzten Seren ein Vergleich überhaupt angängig erscheint; allerdings liegt nach ihrem Verhalten bei der Agglutination ihre Zuordnung zu den Fällen PIETRUSKYS^{3, 6} näher als zu denen FRIEDENREICHS⁴ und LAUERS⁵, welche offenbar doch mit größerer Regelmäßigkeit auch in nur 5stufigen Gebrauchsseren eine Zusammenballung gezeigt haben. Andererseits unterscheiden sich die von uns erhobenen Befunde von jenen dadurch, daß wir den N_s -Receptor auch durch den Absorptionsversuch in der üblichen Anordnung völlig eindeutig bzw. mit größter Wahrscheinlichkeit zum Nachweis bringen konnten. Unter diesem Gesichtswinkel erschien es von großem Interesse, von anderen Untersuchern bestimmte N-Blutproben mit unseren eigenen Seren prüfen zu können. Herr Prof. PIETRUSKY kam unserer Bitte um solche Proben bereitwilligst nach und stellte uns freundlicherweise das Blut des CROME-schen Falles¹ sowie zwei weitere, bisher noch nicht veröffentlichte MN_s -Fälle zu Vergleichszwecken zur Verfügung, wofür ihm auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

Der schwache N-Receptor des Falles CROME¹ wurde untersucht, als wir die besonders hochwertigen, bis 10stufigen Anti-N-Seren¹³ noch nicht in Händen hatten; die beabsichtigte nochmalige Untersuchung dieses Falles mit besseren Seren war bedauerlicherweise aus äußeren Gründen zur Zeit nicht möglich, doch ergaben sich auch mit 5—8stufigen Anti-N-Seren zum Teil eindeutige Befunde. Es zeigte sich, daß mit

älteren, mindestens 5stufigen Abgüssen das schwache N nicht nachzuweisen war. Frisch gewonnene spezifische Gebrauchsseren der gleichen Wirkungsstärke verhielten sich verschieden, mit manchen war keine, mit anderen eine schwache bis starke Agglutination der fraglichen Blutkörperchen zu erzielen. Die Auswertung der stärker reagierenden Abgüsse erbrachte unabhängig vom Titer eine N_s -Agglutination zwischen der 1- und der 4fachen Serumverdünnung; das wirksamste Serum hatte allerdings auch für das schwache N den stärksten Effekt, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht.

Tabelle 6.

Anti-N-Abguß 1:	Agglutination durch						
	1	2	4	8	16	32	64
+ Blutkörperchen M . . .	—	—	—	—	—	—	—
+ Blutkörperchen MN . . .	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
+ Blutkörperchen MN_s . .	+++	+++	+	—	—	—	—

Das Ergebnis der Absättigungsversuche in der üblichen Form war nicht eindeutig, das MN_s -Blut bewirkte eine um 1—2 Stufen stärkere Titerminderung als das normale M.

Bei dem einen der beiden weiteren Fälle mit schwachem N-Receptor handelte es sich um eine mit den Erbgesehen nicht vereinbare Kombination Kind M/Mutter N; eine Kindesvertauschung war ausgeschlossen, so daß bei einer der beiden Personen ein schwacher bzw. defekter Receptor angenommen werden mußte. Mit im ganzen acht hochwertigen Anti-M-Abgüssen (bis über 10stufig) stellten wir bei dem Kinde ein normales M und mit im ganzen neun hochwertigen Anti-N-Abgüssen (bis 9stufig) bei der Mutter ein normales N fest; die Blutkörperchen der Mutter zeigten in keinem einzigen der Anti-M-Seren eine Spur von Agglutination, so daß an der Diagnose N bei der Mutter wohl nicht zu zweifeln war. Anders verhielten sich die Blutkörperchen des Kindes in den verschiedenen Anti-N-Seren. Da drei der 6- bzw. 8stufigen Anti-N-Abgüsse bereits 1—2 Wochen alt waren und mit dem kindlichen Blut keinerlei Reaktion zeigten, wurden sechs neue Abgüsse hergestellt, deren Titer sich zwischen $1/_{32}$ und $1/_{256}$ bewegte. Von diesen reagierte mit den Blutkörperchen des Kindes ein 8stufiger Abguß negativ, 2 Abgüsse von 6 bzw. 8 Stufen schwach (+), die restlichen 3 Abgüsse deutlich (++) bzw. kräftig (+++). Die Auswertung der drei letzten Anti-N-Abgüsse ergab eine Agglutination der schwachen MN_s -Blutkörperchen bis zur 4fachen Serumverdünnung bei fünf negativen M-Kontrollen, wie die Tabelle 7 zeigt.

In keinem Anti-N-Abguß war eine gleich starke oder stärkere Agglutination der MN_s -Blutkörperchen zu verzeichnen, wie sie die normalen MN-Blutkörperchen zeigten. Der Absorptionsversuch konnte nur wenige Male ausgeführt werden und erbrachte kein ganz eindeutiges

Tabelle 7.

Agglutination durch							
Anti-N-Abguß 1:	1	2	4	8	16	32	64
+ Blutkörperchen M . . .	—	—	—	—	—	—	—
+ Blutkörperchen N . . .	+++	+++	+++	+++	++	++	+
+ Blutkörperchen MN . . .	+++	+++	+++	+++	+	±	—
+ Blutkörperchen MN _s . .	+++	++	+	—	—	—	—

Resultat; während das N-Blut der Mutter die Anti-N-Abgüsse voll erschöpfte, bewirkte die gleiche Menge des MN_s-Blutes des Kindes nur eine um 2 Stufen stärkere Titer senkung als M-Blut. Zu weiteren Absättigungsversuchen reichte die Blutprobe leider nicht aus; denn unter Umständen hätte sich unter anderen Abgüssen doch einer gefunden, durch dessen Absorption ein sicherer Hinweis auf das Vorhandensein des N-Receptors gelungen wäre, wie es in den voraus beschriebenen Fällen möglich gewesen ist. Auffallend war nämlich in diesem Sinne die schwache N-Agglutination in allen positiven Verdünnungen eines der mit dem MN_s-Sediment absorbierten Abgüsse, die in der folgenden Tabelle wiedergegeben ist.

Tabelle 8.

Agglutination von N-Blutkörperchen durch							
Anti-N-Abguß 1:	1	2	4	8	16	32	64
Unabsorbiert	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Nach { + 0,15 M . . .	+++	+++	+++	++	+	±	—
Absorption { + 0,15 MN . .	—	—	—	—	—	—	—
von 0,4 { + 0,15 MN _s . .	++	++	+	±	—	—	—

Trotzdem der Absorptionsversuch nicht zu einem verwertbaren Ergebnis führte, dürfte auch in diesem Falle ein defektes N vorgelegen haben, zumal es sich im übrigen analog den oben beschriebenen MN_s-Blutproben verhielt.

In Bezug auf die nächste MN_s-Probe eines erwachsenen Mannes teilte Herr Prof. PIETRUSKY mit, daß der erfahrene und als gewissenhafter Untersucher bekannte Vorgutachter die Diagnose M gestellt, er selbst bei Anwendung der üblichen Technik in 5 Gebrauchsseren vom Titer $\frac{1}{16}$ — $\frac{1}{32}$ teils keine Reaktion, teils eine schwache und nur mit einem Serum eine deutliche Agglutination beobachtet habe; von 11 weiteren Gebrauchsseren hätte ein einziges vom Titer $\frac{1}{32}$ die fraglichen Blutkörperchen bis zur Titergrenze agglutiniert, während die übrigen entweder keine (Titer $\frac{1}{16}$) oder bis zur 1-, 2- bzw. 4fachen Verdünnung (Titer $\frac{1}{16}$ und $\frac{1}{32}$) eine Reaktion ergeben hätten. Das Resultat der Absorption war wechselnd, je nach dem Serum erbrachte sie eine starke Senkung oder keine als spezifisch zu betrachtende Titerminderung des Anti-N-Gebrauchsserums.

Nach diesen Ergebnissen könnte man annehmen, daß es sich hier um einen normalen, lediglich durch äußere Umstände in seiner Agglutinabilität geschwächten, N-Receptor gehandelt hätte. Dagegen sprechen aber mit aller Deutlichkeit die von Herrn Prof. PIETRUSKY und vom Vorgutachter erhobenen Befunde, nach denen der N-Nachweis mit 5stufigen Gebrauchsseren und im Absorptionsversuch mit Sicherheit nicht zu erbringen war. Es muß also an der besonderen Qualität unserer Seren bzw. Abgüsse gelegen haben, daß im vorliegenden Falle eine derartige Reaktion erzielt wurde.

Die vorstehend beschriebenen *MN-Blutproben mit schwachem N-Receptor* weichen vom normalen N dahin ab, daß ihre *Agglutination* mit den angewandten spezifischen Anti-N-Seren stets *schwächer* ausfällt. Drei dieser Proben stimmen weitgehend mit dem CROMESchen Fall überein, insofern ihr schwaches N mit 4—5stufigen Seren *gewöhnlich nicht nachweisbar* ist. Obwohl die Wahrscheinlichkeit der *Nachweismöglichkeit mit Zunahme des Serumtiters* wächst, spielt auch die *qualitative Eignung der Seren* dabei eine *wesentliche Rolle*, da diese sich trotz gleichen Titters nicht gleichmäßig verhalten. *Frisch hergestellte Gebrauchsseren* sind zur Erfassung dieses schwachen N-Receptors *besser geeignet* als ältere Gebrauchsseren vom gleichen Titer. Der N-Receptor der 4. Probe, der auf 5stufige Seren häufiger anspricht, ist mit höherwertigen Seren fast regelmäßig zu erkennen. Der *Absorptionsversuch in der üblichen Anordnung* läßt bei den erstgenannten Fällen meist *im Stich*, da die Tittersenkung zu gering ist. Es finden sich *jedoch auch Anti-N-Seren*, die eine deutlichere bzw. sichere *Erkennung dieses Receptors* gestatten. Der vierte schwache N-Fall ist im Absättigungsversuch mit den von uns benutzten Seren einwandfrei nachzuweisen. Diese Beobachtungen weisen darauf hin, daß *auch für die Absorption die qualitative Eignung der Anti-N-Seren von Bedeutung* ist. Es ergibt sich die Schlußfolgerung, daß *zur Erkennung des schwachen N-Receptors zahlreiche, frischgewonnene, hochwertige, streng spezifische Anti-N-Seren mit größtmöglicher Reaktionsbreite erforderlich sind, mit denen unter Umständen auch seine sichere Erfassung im Absorptionsversuch gelingen kann.*

Literatur.

- ¹ CROME: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **24**, 167 (1935). — ² PIETRUSKY: Münch. med. Wschr. **1936**, 1123. — ³ PIETRUSKY: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **28**, 468 (1937). — ⁴ FRIEDENREICH: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **25**, 358 (1935). — ⁵ LAUER: Z. Immunit.forsch. **99**, 232 (1941). — ⁶ PIETRUSKY: Z. Immunit.forsch. **105**, 200 (1944). — ⁷ DOMBROWSKY: Med. Welt **1938**, 832. — ⁸ LANGENBERG: Z. Immunit.forsch. **97**, 48 (1940). — ⁹ DAHR: Die Technik der Blutgruppen- u. Blutfaktorenbestimmung. Leipzig: Georg Thieme I. Aufl. 1940, 2. Aufl. 1943. — ¹⁰ CLAUBERG: Klin. Wschr. **1937**, 1749. — ¹¹ OLBRICH: Z. Immunit.forsch. **99**, 363 (1941). — ¹² FISCHER u. KRAH: Z. Immunit.forsch. **100**, 98 (1941). — ¹³ KRAH: Z. Immunit.forsch. **105**, 337 (1944).