

## Leitthema: Haptoglobin

**H. KLEIN (Heidelberg): Haptoglobin: Grundlagen, Probleme, Erfahrungen.**

Haptoglobine sind quantitativ bestimmbare Proteine, die Hämoglobin binden und deren Anteil im Serum, auf dessen Gesamtprotein bezogen, nach KNÜCHEL (1961) etwa 1,2%, nach JAYLE und BOUSSIER (1954), mit der Peroxydasemethode nachgewiesen, annähernd 1,4% beträgt. Der Hp-Gehalt kann beträchtlich schwanken, aufwärts bis 7%, abwärts bis auf nicht mehr nachweisbare Konzentrationen (NYMAN 1959, KNÜCHEL 1961). Doch bestehen hier, wie noch zu erwähnen sein wird, einige Unklarheiten.

### I.

Über Haptoglobin würde im Zusammenhang mit erbbiologischen Fragen wohl kaum gesprochen werden, wenn diese nicht als morphologisch darstellbare erbliche Merkmale der Serumproteine erkannt worden wären. Wohl mußte schon die Gleichförmigkeit der papierelektrophoretisch aufgetrennten Serumproteine eineiiger Zwillinge aufgefallen sein. Die Möglichkeiten eines Nachweises erblicher Serumproteine, nicht nur von Hp (GIBLETT, HICKMANN u. SMITHIES 1959), wurden durch die Elektrophorese im Stärkegel wesentlich erweitert. SMITHIES (1955; SMITHIES u. WALKER 1955) erkannte drei Typen hämoglobinbindender Serumproteine und bildete auf Grund einer verhältnismäßig kleinen Familienreihe folgende Vorstellung von Phäno- und Genotypus:

Phänotypus	Genotypus
Hp 1 — 1	Hp <sup>1</sup> /Hp <sup>1</sup>
Hp 2 — 1	Hp <sup>2</sup> /Hp <sup>1</sup>
Hp 2 — 2	Hp <sup>2</sup> /Hp <sup>2</sup>

POLONOVSKI u. JAYLE (1939) hatten mit der Peroxydasemethode den Typus 1—1 als Hp II, Hp 2—2 als Hp I unterschieden. Die Häufigkeit von Hp<sup>1</sup>/Hp<sup>2</sup> wurde bis 1960 durch umfangreiche Bestimmungen in oft sehr unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen festgestellt. Die früher angegebene Zahl von 4724 (KLEIN u. KNÜCHEL 1960) — sie sollte nur die Sicherheit der mit einer anderen Methode gewonnenen Ergebnisse kennzeichnen — ist inzwischen weit überholt worden. BARTSCH, MEIER, KAHLICH-KOENNER u. SCHOELLER (1960) fügen den 7288 Frequenzbestimmungen in verschiedenen europäischen Populationen 1095 aus Bayern, Münster und Wien hinzu. Die Frequenz von Hp<sup>1</sup> wird mit 0,402—0,465 (Bayern: 273 Fälle) angegeben, auffallend höher als in Finnland: Hp 1 0,326 (MÄKELÄ, ERIKSSON u. LEHTOVAARA 1959); in eigenen Bestimmungen, 1400 Fällen, betrug sie 0,491. Es wird darauf

ankommen, nicht die gesamten Frequenzen aus sehr unterschiedlichen Populationen heranzuziehen, sondern nur vergleichbare zusammenzustellen aus genügend umfangreichen Bestimmungen. Zu kleine Zahlen ergeben ein falsches Bild der Frequenzverteilung; Beispiel: 5033 Fälle,  $Hp^1$  0,424; 1400 (eigene) Fälle,  $Hp^1$  0,491. Deshalb ist — die großen Zahlen von PROKOP (1961) bestätigen dies — in annähernd gleichartig zusammengesetzten Bevölkerungsgruppen nur mit geringfügigen Schwankungen der Frequenz zu rechnen. Dies gilt nicht, wie SUTTON u. Mitarb. (1959) zeigten, für andere Rassen. In USA-Weiß liegt die Frequenz von  $Hp^1$  bei 0,43, USA-Schwarz 0,59; bei afrikanischen Negern 0,72, in Indien dagegen nur 0,18. BECKMAN u. MELBIN (1959) fanden  $Hp^1$  bei 329 Lappenkindern eindeutig niedriger als in der übrigen skandinavischen Bevölkerung und schlossen, niedrige  $Hp^1$ -Frequenz bedeute kaukasische Herkunft. Zur anthropologischen Bedeutung der Frequenz von  $Hp^1/Hp^2$  in bestimmten Bevölkerungsgruppen hat BATTSCH (1961) Stellung genommen. Übrigens wurde bei Affen bisher nur Typus 1—1 gefunden (ARENDS u. DE RODRIGUEZ 1959; MÄKELÄ, RENKONEN u. SALONEN 1959). Für die Anwendung in der Begutachtung ist die Kenntnis der Genfrequenz eine Voraussetzung zur Berechnung der Ausschlußmöglichkeiten. Für die Schweiz ist mit  $Hp^1 = 43,5 \pm 2\%$  zu rechnen. Auf Grund eines noch verhältnismäßig kleinen Vaterschaftsmaterials, 74 Fälle, wurden die zu erwartenden  $Hp$ -Ausschlüsse mit 4,8 berechnet, 2 reine und 4 mit Blutgruppen kombinierte  $Hp$ -Ausschlüsse gefunden (BÜTLER, METAXAS-BÜTLER, ROSIN u. WANDREY 1959; BÜTLER, ROSIN u. WALTER 1960). GELATIUS-JENSEN (1958) konnte in 88 Vaterschaftssachen mit 178 Männern 16 ausschließen, KAHLICH-KOENNER (1960) in 156 Fällen mit 194 Männern 6 reine und 17 kombinierte  $Hp$ -Ausschlüsse feststellen. Wenn alle (einschließlich der eigenen) bisher bekannten Vaterschaftsfälle mit der theoretischen Ausschlußchance verglichen werden, beträgt die berechnete Ausschlußzahl 27,6; gefunden wurden, 318 Gutachten mit 523 Männern, über 100 Mehr-Männersachen, 23 reine und 44 mit Blutgruppen zusammenfallende  $Hp$ -Ausschlüsse. Wieweit  $Hp$ -Ausschlüsse häufiger mit MN-Ausschlüssen zusammen vorkommen (KAHLICH-KOENNER 1960), dürfte erst auf Grund umfangreicherer Zahlen zu entscheiden sein. Eine Koppelung von  $Hp^1/Hp^2$  mit anderen Merkmalen ist bisher nicht beobachtet worden (LAURELL u. GRUBB 1957; MÄKELÄ, ERIKSSON u. LEHTOVAARA 1959; BÜTLER, ROSIN u. WALTER 1960). Obwohl eine Beziehung zu anderen Erbfaktoren, vor allem des Blutes — auch die PTC- (= Phenylthiocarbamid) Empfindlichkeit wurde geprüft — nicht nachgewiesen werden konnte, liegt deshalb noch kein endgültiger Beweis für Nichtkoppelung vor, da hierzu noch umfangreichere Familienuntersuchungen notwendig wären. Mit der Vorstellung von zwei allelomorphen Genen

Hp<sup>1</sup>/Hp<sup>2</sup> mit Phänotypen Hp 1—1, Hp 2—1, Hp 2—2 scheinen in der Regel die Hp-Gruppen befriedigend einzuteilen zu sein. BEARN und FRANKLIN (1959) konnten keine immunologische Differenz zwischen den drei Hp-Gruppen nachweisen. FINE u. BATTISTINI (1960) bestätigen dies, schränken aber insofern etwas ein, als sie auf Grund einer immunoelektrophoretischen zweiten Präcipitationslinie bei Typus 2—1 ein Partialantigen zwischen di- und monomeren Hp bei teilweiser Depolymerisation des dimeren Hp für möglich halten. Für Hp 1—1: Hämoglobin wurde eine Sedimentationskonstante (SVEDBERG) von 6 S, Hp 2—2: Hämoglobin von 11 S, Hp 2—1: Hämoglobin von 9 S gefunden. Hp 2—1: Hämoglobin hätte demnach Proteine, die in Hp 1—1 und Hp 2—2 nicht nachweisbar wären, die Proteincharakteristik der heterozygoten unterscheide sich wesentlich von dem der homozygoten Hp-Typen. Deshalb sei auch — so folgern BEARN u. FRANKLIN (1959) — die Erbweise von Hp nicht so einfach, wie allgemein angenommen würde. So ist es wohl kaum ein Zufall, daß Typus-Modifikationen zuerst bei Hp 2—1 gefunden wurden: Typus 2—1 mod (SMITHIES 1959); er fand sich, auffallend häufig, bei 7 von 50 untersuchten Negern (New York).

Eine Familie mit Hp 2—1 mod konnte beschrieben werden (SMITHIES u. HILLER 1959). Unter 406 amerikanischen Negern wurde 2—1 mod in 40 Fällen gefunden (GIBBLET 1959). Eine ausreichende Charakteristik dieser Typus-Modifikation, bei dem Hp in gleicher Weise wie 2—1 sich auftrennt, 4 Hp-Proteine weniger als üblich enthält, hat SMITHIES (1959) gegeben. Ein anderer Hp-Typus, bei einer amerikanischen Negerin und einer ihrer Töchter gefunden, ist gekennzeichnet durch zahlreiche Hp-Zonen; sie entsprechen jedoch, nach Zahl und Lage im Stärkegel, keiner der bisher bekannten Hp-Gruppen. Es scheint, als enthalte Typus 1—1 nur ein Protein, 2—2 eine ganze Serie, 2—1 andere Proteine als 1—1 und 2—2. Die einfachste Hypothese, der SMITHIES (1939) zuzuneigen scheint — wobei er den genetisch bestimmten Wechsel von einem einzelnen Protein zu einer polymeren Serie für besonders bemerkenswert hält — ist für 2—2 die Annahme einer größeren Reihe polymerer Proteine ( $n=1:2:3:4$ ; stable polymers). Deshalb muß mit weiteren Typus-Modifikationen gerechnet werden. Eine Beobachtung von GELATIUS-JENSEN (1958), Hp 1—1 bei einem Kind; dessen gesunde Mutter weder 2—2 noch 2—1 war, konnte, da Familienuntersuchungen nicht möglich waren, nicht geklärt werden; jedoch konnte derselbe Phänotypus noch einmal in einer Familie beobachtet, seine Erbweise festgestellt werden. Dieser Typus ist dadurch gekennzeichnet, daß das sonst bei 2—1 breite, aber in einer Bande erscheinende zweite Hp als zwei scharf getrennte schmale Hp-Proteine sichtbar werden. Diese Form dürfte — wie aus den eigenen Erfahrungen hervorgeht — nicht so selten sein, wie ursprünglich angenommen wurde.

Die Konzentration von Hp kann so niedrig sein, daß der Nachweis schwierig oder unmöglich ist (KAHLICH-KOENNER u. WEIPPL 1960; KNÜCHEL 1961). Mit der  $\text{Cr}^{51}$ -Methode bestimmten NOSSLIN und NYMAN (1958) die Überlebenszeit der Erythrocyten und fanden, wenn sie weniger als 17 Tage betrug, kein Hp (= Ahaptoglobinämie). Eine Erforschung aller in Betracht kommenden Ursachen wird deshalb in jedem Falle von fehlendem Hp notwendig sein. Bemerkenswerterweise kommen, wenn nur einige Arbeiten hier verglichen werden, auf 1225 Fälle in Dänemark und England 4, auf 119 in Westafrika 46 Ahaptoglobininämiefälle (SUTTON u. a. 1959, ALLISON 1959). Je sorgfältiger untersucht wird, der Hp-Typus selbst wie, falls kein Hp vorhanden, auch klinisch, um so weniger werden ungeklärte Ahaptoglobininämien vorkommen. Zuerst ist — dies betont SMITHIES (1959) — an einen Bestimmungsfehler zu denken. Die wenigen übrigbleibenden Fälle — keiner in den eigenen Untersuchungen — können vorläufig nicht eindeutig erklärt werden. SMITHIES (1959) fand im Serum normaler Personen der weißen Bevölkerung („well over a thousand“) mit einer Ausnahme keine Ahaptoglobininämie, dagegen einen Fall unter 50 Negeren (New York). Über die wenigen auch klinisch untersuchten Fälle liegen nur ausnahmsweise Familienuntersuchungen vor (GELATIUS-JENSEN 1958, GIBBLET 1959, SUTTON u. a. 1959). Diese reichen zu einer Erklärung nicht aus. Die Vorstellung eines „third silent gen“ — dessen Frequenz dann nicht größer als 0,02 sein dürfte — oder eines „suppressor gen“ (GELATIUS-JENSEN 1958, ALLISON 1959, SUTTON 1959) könnte nur auf Grund umfangreicherer Untersuchungen, als sie jetzt vorliegen, erörtert werden. Eine Beobachtung von SUTTON (1959) — mehrfache Bestimmungen desselben Serums in größeren Zeitabständen: Kein Hp in den ersten zwei, in der 3. Bestimmung Hp 2—1 — könnte durch vier eigene Beobachtungen bestätigt werden; in einem Falle, nach der Diagnose von 2—1, wurde in der nächsten Bestimmung kein Hp, dann wieder Typus 2—1 gefunden. Es scheinen vereinzelte Fälle vorzukommen, in denen deshalb der Typus nicht nachgewiesen werden kann, weil die Hp-Konzentration zu niedrig ist, ohne daß hierfür eine Ursache aufgedeckt werden kann. Es sollte deshalb nur dann von einer Ahaptoglobininämie gesprochen werden, wenn bei mehrfachen und nach längeren Zeitabständen durchgeführten Bestimmungen kein Hp nachgewiesen werden konnte (SUTTON 1959, Abb. 3 könnte täuschen; bei II, 1 wurden bei wiederholten Bestimmungen „traces of 2—1“ festgestellt, demnach keine Ahaptoglobininämie). Für einen Genotypus  $\text{Hp}^1/\text{Hp}^0$  oder  $\text{Hp}^2/\text{Hp}^0$  fand auch GELATIUS-JENSEN (1958) in mehr als 1000 Mutter-Kind-Kombinationen kein Beispiel. Dagegen konnte in einer Familie mit 8 Fällen von Ahaptoglobininämie ein verstärkter Erythrocytenabbau nachgewiesen werden. Nach L. BREITENECKER (1960; Graz, Diskussion) soll auch

ALLISON (1959) eine kritische Stellung zu einer genetisch bedingten Ahaptoglobulinämie einnehmen.

Die Zwillingsuntersuchungen — mit eigenen Fällen: 510 Zwillinge — ergaben bei eineiigen identische, bei zweieiigen eine Häufigkeit der Hp-Gruppen, wie sie nach der Frequenz von  $\text{Hp}^1/\text{Hp}^2$  zu erwarten war. Die Hypothese von zwei Genen wird dadurch bestätigt. In mehr als 1550 Mutter-Kind-Kombinationen (einschließlich der eigenen Bestimmungen) wurden keine Ausnahmen festgestellt. Einschränkend könnte höchstens gesagt werden, daß die kritischen Kombinationen, Mutter  $\text{Hp}^1/\text{Hp}^1$ , noch nicht genügend umfangreich seien. Doch umfaßt diese Gruppe bei GELATIUS-JENSEN (1958) allein schon 179 Fälle.

Bisher kann über mehr als 500 Familienuntersuchungen berichtet werden: GELATIUS-JENSEN (1958) ist hier mit 205 Familien, MÄKELÄ, ERIKSSON u. LEHTOVAARA (1959) mit 126 Familien, insgesamt 1228 Kinder, beteiligt. Wenn bedacht wird, daß eine der größten Familienuntersuchungen, die hier vergleichsweise herangezogen werden könnte, die von WIENER (1959) über MN, 1500 Familien mit 3379 Kindern, zwischen 1929 und 1952 entstanden ist, dürfte in der kurzen Zeit, seitdem die Hp-Gruppen bekannt sind, kaum gründlicher, als es geschehen ist, untersucht worden sein. Hier konnten anfangs beobachtete Unstimmigkeiten — größere Anzahl der Hp-heterozygoten Kinder aus Hp 2—1: Hp 2—2 und Hp 2—1: Hp 2—2 — dadurch aufgeklärt und später vermieden werden, daß in serienmäßigen Familienuntersuchungen keine Kinder unter dem 1. Lebensmonat miteinbezogen, zugleich nicht nur Proteinfärbungen, sondern diese mit der Benzidinreaktion kombiniert wurden. So waren, auch in weniger umfassenden Familienuntersuchungen, keine Ausnahmen festzustellen.

## II.

Bei dem gegenwärtigen Stand der Hp-Forschung könnte es scheinen, als wäre fast nichts mehr zu tun. Deshalb gingen die eigenen Untersuchungen ursprünglich von der Überlegung aus, nicht möglichst viele Bestimmungen, die bereits vorlagen, durchzuführen, sondern mit verbesserten Methoden eine größere Sicherheit und neue Einsichten zu erreichen. Über die Möglichkeit, papierelektrophoretisch die Hp-Gruppen zu bestimmen, wurde schon berichtet (KLEIN u. KNÜCHEL 1960)<sup>1</sup>. Die Elektrophorese im Stärkegel wurde zu verfeinern versucht (KNÜCHEL 1961). So wurden inzwischen, meist mehrfach, auf Papier und im Stärkegel, über 2500 Hp-Gruppen bestimmt. Es zeigte sich, wie zu

<sup>1</sup> Herrn Prof. Dr. W. LAVES sei für folgenden Hinweis gedankt: M. D. POULIK u. O. SMITHIES (1958) erkannten die durch Stärkegelelektrophorese bereits bestimmten Hp-Typen auch papierelektrophoretisch; sie entwickelten daraus wohl deshalb keine Methode, weil die Zonenelektrophorese im Stärkegel informationssicher erschien und tatsächlich auch ist.

erwarten gewesen, daß bei größeren Zahlen die früher angegebenen Frequenzen sich etwas verschoben:

$n$	Hp <sup>1</sup>	Hp <sup>2</sup>
1400	0,491	0,509
2500	0,462	0,538

Die Frequenzen entsprechen, obwohl etwas höher liegend, denen, die BÜTLER, ROSIN u. WALTER (1960) für die Schweiz angaben: Hp<sup>1</sup> 43,  $5 \pm 2\%$ ; sie fügen sich den Zahlen von PROKOP (1961) ein und liegen im Bereich der Häufigkeit, wie sie für vergleichbare europäische Bevölkerungsgruppen gefunden werden. Diese Zahlen können der Berechnung der Ausschlußerwartung zugrunde gelegt werden. Die eigenen Ausschlüsse — vier allein durch Hp — reichen nicht aus, um weitere Schlüsse, als sie bereits vorliegen, zu ziehen. Die Untersuchungen von KAHLICH-KOENNER u. G. WEIPPL (1960) erlauben, wenn beim Neugeborenen überhaupt ein Hp-Typus nachweisbar ist, die Feststellung, daß dieser auch der Typus des Kindes, nicht der Mutter, ist. Die Untersuchung von 60 Mutter-Neugeborenen-Paaren, Neugeborene am 1. Lebenstage, ergab eine sichere Diagnose in 9 Fällen beim Neugeborenen. Bei progressiver Färbung mit Supracenviolett wurden in 14 Fällen die typischen Hp-Proteine sichtbar, die Benzidinreaktion war hier negativ. Diese Beobachtung müßte noch weiter geklärt werden, zumal es aufschlußreich erscheint, die Entwicklung des Phänotypus verfolgen zu können. Die Familien- und Zwillingsuntersuchungen — insgesamt — erlauben keine weiteren Rückschlüsse als die bereits bekannten, doch kann festgestellt werden, daß sich keine Beobachtungen ergaben, die nicht mit der Hypothese von Hp<sup>1</sup>/Hp<sup>2</sup> zu vereinbaren wären. Die Bestimmung der Hp-Gruppen im Leichenblut bereitete anfangs größere Schwierigkeiten, jedoch ergab sich bei 100 untersuchten Bluten, in der Regel zwischen 24 und 48 Std nach dem Tode entnommen, folgende Gruppenverteilung:

$n$	Hp 1—1	Hp 2—1	Hp 2—2
100	18,5	52,8	22,6

Demnach war in 6,1% Fällen eine Diagnose nicht zu stellen. Die Frequenz für Hp<sup>1</sup> würde höher liegen. Diese Abweichung zu erklären, wird weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Die Untersuchung des Leichenblutes war aus verschiedenen Gründen aufschlußreich; vor allem zeigte sie, mit welchen Schwierigkeiten bei der Bestimmung der Hp-Gruppen in nicht frisch entnommenem Blut zu rechnen ist. Der Komplex Hp:Hämoglobin in frischem nichthämolytischem Blut liegt im  $\alpha_2$ -Bereich, verschiebt sich in älterem Blut mehr nach  $\beta_1$ . JAYLE u. BOUSSIER (1954) erwähnen, daß im Serum, auch gekühlt aufbewahrt,

Hp-Veränderungen auftreten. Bei Typus 2—1 und 2—2 verschieben sich im gealterten Serum einzelne Hp-Zonen oder sind überhaupt nicht mehr nachzuweisen. Schließlich können in älterem Blut auch andere Proteine als Hp zugesetztes oder bereits vorhandenes, durch Hämolyse freigeswordenes Hämoglobin binden. Es wird nicht immer genügen, an diese Schwierigkeiten zu denken, um Fehldiagnosen zu vermeiden.

Über atypische nicht mit den üblichen Hp-Gruppen übereinstimmende Fälle soll später ausführlich berichtet werden.

### Literatur

- ALLISON, A. C.: Haptoglobins. Blut 5, 201—204 (1959).  
 — Genetic control of human haptoglobin synthesis. Nature (Lond.) 183, 1312—1314 (1959).  
 — Recent developments in the study of inherited anemia. Eugen. Quart. 6 (1959).  
 — B. S. BLUMBERG and REES: Haptoglobin types in british, spanish basque and Nigerian African populations. Nature (Lond.) 181, 824—825 (1958).  
 —, and W. AP REES: The binding of haemoglobine by plasma proteins (haptoglobins). Brit. med. J. 1957, 1137.  
 ARENDS, T., and M. L. G. DE RODRIGUEZ: Haptoglobin in monkeys. Nature (Lond.) 185, 325—326 (1960).  
 BEARN, A. G., and E. C. FRANKLIN: Comparative studies on the physical characteristics of the heritable haptoglobin groups of human serum. J. exp. Med. 109, 55—68 (1959).  
 BAITSCH, H.: Zur Verteilung der Haptoglobintypen in Bayern. Blut 5, 302—304 (1959).  
 — G. MEIER, L. SCHOELLER and D. M. KÄHLICH-KOENNER: Frequencies of the haptoglobin serum groups among blood donors from Austria and Germany. Nature (Lond.) 186, 476—477 (1960).  
 BREITENECKER, L.: Untersuchungen über Haptoglobin (Diskussion). Wien. klin. Wschr. 72, 55—56 (1960).  
 BÜTLER, R., M. METAXAS-BÜHLER, S. ROSIN u. R. WANDREY: Untersuchungen über die Haptoglobingruppen von SMITHIES. Schweiz. med. Wschr. 89, 1041 bis 1042 (1959).  
 — S. ROSIN u. M. WALTER: Untersuchungen über die Haptoglobingruppen nach SMITHIES. II. Schweiz. med. Wschr. 90, 347 (1960).  
 BURTON, P., P. GRABAR, W. G. BOUSSIER et M. F. JAYLE: Etude immunochemique de l'haptoglobine. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 36, 1029—1035 (1954).  
 CONNELL, G. E., and O. SMITHIES: Human haptoglobins: Estimation and purification. Biochem. J. 72, 115—121 (1959).  
 CROSBY, W. H., and F. W. FURTH: A modification of the benzidine method for measurement of hemoglobin in plasma and urine. Blut 11, 380—383 (1956).  
 FINE, J. M., et A. BATTISTINI: Etude immunologique des haptoglobins humaines individuelles. Experientia (Basel) 16, 57 (1960).  
 GALATIUS-JENSEN, F.: Investigations of the genetic mechanism of the haptoglobins with a view to the medico-legal aspects. Acta Med. leg. soc. (Liège) 9, 41—46 (1956).  
 — Further investigations of the genetic mechanism of the haptoglobins. Acta genet. (Basel) 7, 549—564 (1957).  
 — On haptoglobins in relation to age and disease. Papier read of the IV European Congr. of Haematology, Copenhagen 1957.

- GALATTUS-JENSEN, F.: On the genetics of the haptoglobins. *Acta genet. (Basel)* **8**, 232—247 (1958).
- Rare phenotypes in the Hp-System. *Acta genet. (Basel)*, **8**, 248—255 (1958).
- GIBLETT, E. R., C. G. HICKMANN and O. SMITHIES: Serum transferrins. *Nature (Lond.)* **183**, 1589—1590 (1959).
- GUINAND, S., J. TONNELAT, G. BOUSSIER et M. F. JAYLE: Propriétés physiques de l'haptoglobine sérumoïde  $a_2$  et de sa combinaison hémoglobinique. *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* **38**, 329 (1956).
- HARRIS, H., E. B. ROBSON and M. SINISCALCO: Atypical segregation of haptoglobintypes in men. *Nature (Lond.)* **182**, 1324—1325 (1958).
- HIRSCHFELD, JAN: Immune-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins. *Acta path. microbiol. scand.* **47**, 160—168 (1959).
- JAYLE, M. F.: Etude comparative de l'action catalytique des peroxydases végétales et de l'hémoglobine. *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* **21**, 14—47 (1939).
- Evaluation moléculaire de l'haptoglobine par une réaction enzymatique de peroxydation. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **211**, 574—576 (1940).
- , et J. BADIN: Signification et intérêt clinique de la formule protéique du plasma sanguin. *Presse méd.* **61**, 343—345 (1953).
- , et G. BOUSSIER: Les séromucoides du sang leurs relations avec les mucoprotéines de la substance fondamentale du tissu conjonctif. *Expos. ann. Biochim. méd.* **17**, 157—194 (1955).
- , et G. BUSSIER: Obtention à l'état homogène d'une mucoprotéine sérique, l'haptoglobine. *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* **36**, 959—969 (1954).
- JAVID, J., D. S. FISCHER and T. H. SPAET: Inability of haptoglobin to bind myoglobin. *Blood* **14**, 683—687 (1959).
- KAHLICH-KOENNER, D. M.: Über die Haptoglobin-Bestimmung im Vaterschafts-prozeß. *Wien. med. Wschr.* **110**, 493—494 (1960).
- , u. G. WEIPPL: Haptoglobin-Typen beim Neugeborenen. *Wien. klin. Wschr.* **72**, 674—676 (1960).
- KEIDERLING, W., u. F. WÖHLER: Zur Physiologie und Pathologie des Speichereisens. 1. Mitt. Eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Ferritins. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac.* **221**, 418—434 (1945).
- KLEIN, H., u. F. KNÜCHEL: Papierelektrophoretische Bestimmung der Haptoglobingruppen des Menschen. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **50**, 278—286 (1960).
- LAURELL, A. B., and R. GRUBB: The Hp and Gm groups and secretor characters of 46 blood donors. *Vox Sang. (Basel)* **2**, 312—316 (1957).
- LAURELL, C. B., and M. NYMAN: Studies on the serum haptoglobin level in hemoglobinemia and its influence on renal excretion of hemoglobin. *Blood* **12**, 493—506 (1957).
- MÄKELÄ, O., A. W. ERIKSSON and R. LEHTOVAARA: On the inheritance of the haptoglobin serum groups. *Acta genet. (Basel)* **9**, 149—166 (1959).
- O. V. RENKONEN and E. SALONEN: Elektrophoretic patterns of haptoglobins in apes. *Nature (Lond.)* **185**, 852—853 (1960).
- MORETTI, J., G. BOUSSIER et M. P. JAYLE: Réalisation technique et premières applications de l'électrophorèse sur gel d'amidon. *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* **39**, 593—605 (1957).
- — — Nouvelle méthode de purification des protéines par électrophorèse dans un gel d'amidon. *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* **40**, 59—65 (1958).
- MOULLEC, J., and J. M. FINE: Frequencies of the haptoglobin groups in 406 french blood donors. *Nature (Lond.)* **184**, 196—197 (1959).
- NOSSLIN, B. F., and M. NYMAN: Haptoglobin determination in diagnosis of hemolytic diseases. *Lancet* **1958**, 100—101.

- NYMAN, M.: Über Haptoglobinbestimmung im Serum, Normalkonzentration und Verhältnis zu SMITHIES' Serumgruppen. Protides of the fifth Coll. Bruges 1957. London: Elsevier 1958.
- Serum haptoglobin. Methodological and clinical studies. Scand. J. clin. Lab. Invest. **11**, Suppl. 39 (1959).
- OWEN, J. A., I. R. MACKAY and C. GOT: Serum haptoglobins in hepatobiliary disease. Brit. med. J. **1959**, 1454.
- H. J. SILBERMAN and C. GOT: Detection of haemoglobin, haemoglobin-haptoglobin complexes and other substances with peroxylase activity after zone electrophoresis. Nature (Lond.) **182**, 1373 (1958).
- POLONOVSKI, M.: Haptoglobine et globine du plasma sanguin. C. R. Soc. Biol. (Paris) **138**, 289—290 (1944).
- , et J. JAYLE: Existence dans le plasma sanguin d'une substance activant l'action peroxydasique de l'hémoglobine. C. R. Soc. Biol. (Paris) **129**, 457—460 (1938).
- , et M. JAYLE: Peroxydases animales, leur spécificité et leur rôle biologique. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **21**, 66—91 (1939).
- , et M. F. JAYLE: Sur la préparation d'une nouvelle fraction des protéines plasmatiques, l'haptoglobine. C. R. Acad. Sci. (Paris) **211**, 517—519 (1940).
- POULIK, M. D., and O. SMITHIES: Comparison and combination of the starch-gel and filter-paper electrophoretic methods applied to human sera: Two-dimensional electrophoresis. Biochem. J. **68**, 636—643 (1958).
- PROKOP, O., O. SEREAS, H. FRITZ u. D. ZSCHOCKE: Bedeutung und Technik der Haptoglobinbestimmung unter besonderer Berücksichtigung einer landeseigenen Stärke. Z. ärztl. Fortbild. **24**, 675—678 (1960).
- ROYDEN, VAND A. H. H.: Het haptoglobine een bidrage tot de kennis der  $\alpha$ -globulinen. Diss. Amsterdam 1950. Delft: Drukkerij Waltman.
- SMITHIES, O.: Zone electrophoresis in starch gel: Group variations in the serum proteins of normal human adults. Biochem. J. **61**, 629—641 (1955).
- Grouped variations in the occurrence of new protein components in normal human serum. Nature (Lond.) **175**, 307—308 (1955).
- An improved procedure for starch-gel electrophoresis: Further variations in the serum proteins of normal individuals. Biochem. J. **71**, 585—587 (1959).
- Zone electrophoresis in starch gels and its application to studies of serum protein. Advanc. Protein Chem. **14**, 65—113 (1959).
- , and N. F. WALKER: Genetic control of some serum proteins in normal humans. Nature (Lond.) **176**, 1265—1266 (1955).
- — Notation for serum-protein groups and the genes controlling their inheritance. Nature (Lond.) **178**, 694—695 (1956).
- STEINBACH, M., and L. PEJAUDIER: The behavior of haptoglobin during routine fractionation. Nature (Lond.) **184**, 362 (1959).
- SUTTON, H. E., J. V. NEEL, G. BINSON and W. W. ZUELZER: Serum protein differences between africans and caucasians. Nature (Lond.) **178**, 1287—1288 (1956).
- — F. R. LIVINGSTONE, G. BINSON, P. KUNSTADTER and L. E. TROMBLEY: The frequencies of haptoglobin types in five populations. Ann. hum. Genet. **23**, 175—184 (1959).
- TUTTLE, A. H.: Demonstration of hemoglobin-reactive substance in human serum. Science **121**, 701—702 (1955).