

Auf die Bedeutung der photometrischen Auswertung zur Dokumentation oder für klinische und forensische Probleme wird hingewiesen.

Literatur

- ¹ SMITHIES, O.: Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* **61**, 629—641 (1955).
- ² SMITHIES, O.: Zone electrophoresis in starch gels and its application to studies of serum proteins. *Advanc. Protein Chem.* **14** (1959). Siehe dort auch weitere Literatur.
- ³ POULIK, M. D.: Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature (Lond.)* **180**, 1477 (1957).
- ⁴ KLEIN, H., u. F. KNÜCHEL: Papierelektrophoretische Bestimmung der Haptoglobingruppen des Menschen. *Deutsche Z. f. gerichtl. Med.* **50**, 278 (1960).

Dr. med. F. KNÜCHEL,

Oberarzt am Sanatorium Königstuhl der LVA Baden in Heidelberg

H. BAITSCH (München): Über Erfahrungen mit der Bestimmungstechnik und der forensischen Brauchbarkeit der Haptoglobintypen nach SMITHIES. (Mit 5 Textabbildungen.)

I.

Die beiden autosomalen Allele Hp^1 und Hp^2 , die nach der Hypothese von SMITHIES und FORD-WALKER den Polymorphismus des Haptoglobin-Systems steuern, unterscheiden sich hinsichtlich des Genprodukts, nämlich des von ihnen synthetisierten Proteins, sehr wahrscheinlich wie folgt: Das Protein, welches in seiner Synthese vom Allel Hp^2 kontrolliert wird, hat die Fähigkeit, höhere Polymere zu bilden, während dem vom Allel Hp^1 kontrollierten Protein diese Fähigkeit fehlt (ALLISON, SMITHIES u. a.).

Der strukturelle Unterschied in der Aminosäuresequenz, der sog. Primärstruktur des Proteins, der beiden Proteintypen ist dabei sehr wahrscheinlich nur ganz geringfügig; von diesen Unterschieden rühren sehr wahrscheinlich die Unterschiede in den Nettoladungen her. Für diese Annahme spricht insbesondere die Tatsache, daß man nicht in der Lage ist, die verschiedenen Haptoglobintypen immunologisch voneinander zu unterscheiden (BEARN und FRANKLIN, FINE und BATTISTINI).

Die übrigen Unterscheidungsmerkmale der Haptoglobintypen dürften im wesentlichen Folgemerkmale darstellen: Die unterschiedliche Hämoglobin-Bindungsfähigkeit der 3 Phänotypen (M. NYMAN) rührt sehr wahrscheinlich daher, daß bei den Haptoglobintypen, bei denen das vom Allel Hp^2 kontrollierte Protein beteiligt ist, Bindungskräfte für den Polymerisationsvorgang besetzt werden (ALLISON, SMITHIES). Die Ultrazentrifugen-Merkmale (und entsprechend natürlich auch die Molekulargewichte) lassen sich zwanglos ebenfalls aus dem Fehlen bzw. dem Vorhandensein des Polymerisationseffektes ableiten (BEARN und FRANKLIN

u. a.). Die unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit bei der Zonenelektrophorese im Stärkegel ist analog zu interpretieren (vgl. insbesondere SMITHIES).

II.

Wenn wir das Haptoglobin-System für forensische Zwecke verwenden wollen, dann wird es darauf ankommen, die Phänotypen der von den Allelen Hp^1 und Hp^2 in der Synthese kontrollierten Proteine eindeutig zu unterscheiden. Man wird dabei der Methode den Vorzug geben, die den Unterschied im primären Genprodukt, nämlich das Fehlen oder das Vorhandensein der Polymerisation sichtbar macht.

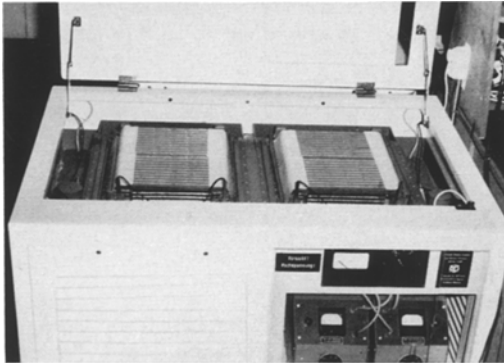


Abb. 1. Apparative Anordnung zur Bestimmung der Haptoglobin-Serumgruppen im Pherographen.
Original Frankfurt

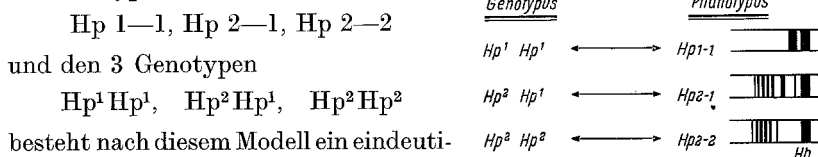
Auf Grund eigener Untersuchungen können wir in Übereinstimmung mit den Erfahrungen, die in der Literatur niedergelegt sind, zu dieser Methodenwahl folgendes sagen: Von allen Verfahren, die bisher beschrieben wurden, um die verschiedenen Haptoglobintypen zu differenzieren, gebührt

der Zonenelektrophorese im Stärkegel der Vorzug; sie verbindet zwei Prinzipien: Zunächst einmal wird wie bei der freien oder der Papierelektrophorese eine Auftrennung nach der Nettoladung vorgenommen. Zum zweiten aber — und dies ist ihr unbestreitbarer Vorzug gegenüber den übrigen Elektrophorese-Verfahren — hat die Stärkegel-Elektrophorese einen ausgesprochenen Siebeffekt hinsichtlich der Molekülgröße, wodurch die in der Molekülgröße unterschiedlichen höheren Polymerisationsstufen sehr gut erfaßt und differenziert werden können. Den genannten Siebeffekt hat bestenfalls noch, allerdings in nicht so ausgeprägtem Maße, die Agarose-Elektrophorese; dagegen sind die übrigen Elektrophorese-Verfahren im wesentlichen nur ausgerichtet nach der Auftrennung der Proteine hinsichtlich ihrer Nettoladung (insbesondere Papier- und Acetatstreifen-Elektrophorese). Zu diesen Vorteilen der Stärkegel-Elektrophorese kommt noch hinzu, daß sie weitaus weniger empfindlich und dabei auch ökonomischer und in der apparativen Anordnung variabler ist als die genannten übrigen Elektrophorese-Verfahren. Zugleich erlaubt diese Methodik auch die Bestimmung anderer genetisch gesteuerter Polymorphismen der Serumproteine (z. B. Transferrine, sog. Postalbumine).

Mit einer von uns mehrfach variierten Bestimmungstechnik (Hochspannungselektrophorese mit dem Pherographen Original Frankfurt; Hersteller: Firma Hormuth & Vetter, Wiesloch-Heidelberg) sind wir jetzt in der Lage, pro Tag bis zu 400 Bestimmungen durchzuführen; wir haben diese Technik schon mehrfach beschrieben, eine ausführliche Darstellung befindet sich im Druck. Unsere Reihenuntersuchungen dienen im wesentlichen der Materialsammlung für populationsgenetische Untersuchungen. Daneben führen wir auch für forensische Zwecke mit derselben Technik Bestimmungen des Haptoglobintypus durch (Abb. 1).

III.

Da die Schlußfolgerungen, die wir bei der Anwendung der Serumhaptoglobine im Vaterschaftsgutachten ziehen, letztendlich genetischer Art sind, muß Klarheit darüber bestehen, welches genetische Modell diesen Schlußfolgerungen zugrunde zu legen ist. Nach der Hypothese von SMITHIES und FORD-WALKER postulieren wir das Modell des einfachen Erbganges bei Erkennbarkeit der 3 Phänotypen; zwischen den 3 Phänotypen



besteht nach diesem Modell ein eindeutiger Zusammenhang; er wird durch das nebenstehende Schema repräsentiert.

Abb. 2

Die entscheidende Frage ist, ob dieses genetische Modell tatsächlich zutrifft oder ob es nicht zutrifft.

Wir können zunächst untersuchen, ob es außer den 3 Phänotypen, die in dem obigen Modell enthalten sind, noch andere Phänotypen gibt, so daß das Modell auf der Seite der Phänotypen erweitert werden müßte. Die zweite Frage ist die, ob die eindeutige Beziehung, die in den Doppelpfeilen des obigen Modells angedeutet wird, auch tatsächlich vorliegt. Wir können schon jetzt einschränkend sagen, daß es genügt, wenn bestimmten Phänotypen eindeutig bestimmte Genotypen zuzuordnen sind.

IV.

Die *Phänotypen*, welche wir im Zuge unserer ausgedehnten Reihenuntersuchungen beobachten konnten, lassen sich offensichtlich nicht ausnahmslos in das genetische Modell einordnen. Die Mehrzahl der Muster, die bisher in der Literatur als abweichende Muster beschrieben worden sind, konnten auch wir beobachten.

Die Abb. 3 bringt eine Aufstellung einiger bisher beobachteter Varianten. Die Häufigkeit derartiger Varianten ist recht unterschiedlich, von Population zu Population verschieden. In unserem eigenen Untersuchungsgut, das bisher rund 20 000 Haptoglobinbestimmungen umfaßt, machen sie zusammengenommen weniger als 1% aus. Das heißt über

99% aller beobachteten Muster lassen sich zwanglos in das obige Schema einordnen. Damit ist zunächst einmal für die Mehrzahl der Fälle die Zugehörigkeit zu einem der 3 Phänotypen zu erwarten.

Die eindeutige Zuordnung dieser 3 häufigsten Phänotypen zu den 3 postulierten Genotypen, analog dem gewählten genetischen Modell, läßt sich nur indirekt beweisen. Familienuntersuchungen (ganze Familien, Mutter-Kind-Verbindungen) sind die Methode der Wahl für diese

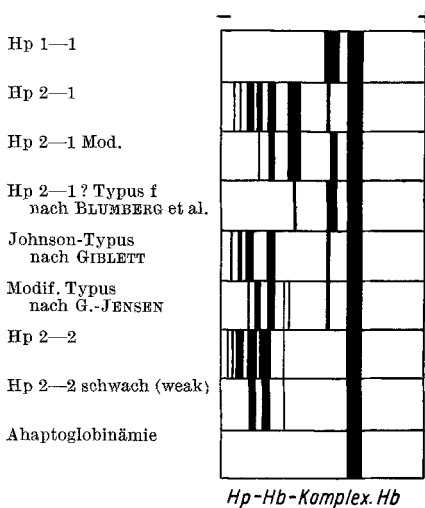


Abb. 3. Muster der Haptoglobin-Serumgruppen (Stärkegelelektrophorese, Benzidin-Färbung; die am weitesten anodisch gewanderte Fraktion ist das freie Hämoglobin, das nicht vom Haptoglobin gebunden wurde)

Überprüfung. Unsere eigenen Erfahrungen stützen sich bis jetzt auf rund 500 Mutter-Kind-Verbindungen, ergänzt durch etwa annähernd 100 Familien, die wir zur Prüfung der Erbgangshypothese gesammelt haben. In allen diesen Familien sowie auch in den Mutter-Kind-Verbindungen findet sich ohne Ausnahme eine Aufspaltung nach den Regeln des einfachen Erbgangs entsprechend dem obigen genetischen Modell. In diesen Zahlen sind jedoch die Fälle nicht enthalten, bei denen derartige Muster auftreten, die sich nicht eindeutig den 3 häufigsten Phänotypen zuordnen lassen. Die Zahl dieser nicht einzuordnenden Muster ist wohl auch in diesem Material nur

sehr gering; immerhin treten aber derartige Fälle doch auf. So beobachteten wir in dem bisher gesammelten forensischen und Familien-Material vereinzelte Fälle von Ahaptoglobinämie; etwas häufiger sind die Muster, die man nach der allerdings noch uneinheitlichen Nomenklatur „weich“ oder „modifiziert“ nennt. Den Hauptanteil hierbei stellen die Muster Hp 2—2 und Hp 2—1.

Bei der forensischen Beurteilung derartiger Muster können Interpretationsschwierigkeiten auftreten, weil die genetischen Grundlagen für die meisten dieser Typen noch nicht eindeutig geklärt sind. Folgendes läßt sich schon jetzt sagen: Eine genetische Sonderstellung dürfte dem modifizierten Typus Hp 2—1 Ca nach GALATIUS-JENSEN zukommen; auch dürfte sich der Johnson-Typus (nach GIBLETT) genetisch abheben von den übrigen Typen. Beide sind extreme Sonderfälle. Vielleicht sind besondere Allele für die Ausbildung dieser Phänotypen verantwortlich.

Noch nicht eindeutig geklärt ist die genetische Basis der Typen Hp 2—1 mod., wie sie vor allem von SMITHIES sowie von GIBLETT mehrfach beschrieben wurden und wie sie insbesondere bei afrikanischen Populationen häufiger auftreten.

Diese modifizierten Phänotypen haben uns schon früh den Gedanken nahegelegt, es könnten für ihr Zustandekommen quantitative Effekte verantwortlich sein.

Wir führen zur Klärung dieser Problematik zur Zeit quantitative Haptoglobulinbestimmungen durch, um zu prüfen, ob sich diese Typen als quantitative Varianten interpretieren lassen. Die oben geäußerte Vermutung hat sich insofern teilweise bestätigt, als die Individuen, die den Haptoglobulin-Phänotypus Hp 2—2 schwach (oder Hp 2—2 weak) und die Individuen mit dem Typus Hp 2—1 mod. fast regelmäßig eine zum Teil erheblich unter dem Durchschnitt liegende Haptoglobinkonzentration besitzen (Haptoglobinkonzentration ausgedrückt als Hämoglobin-Bindungsfähigkeit, Titrationsmethode nach JAYLE). Noch bei einer so geringen Hämoglobin-Bindungsfähigkeit, die nach der Definition von JAYLE einer Haptoglobinkonzentration von 4 mg-% entspricht, konnten wir in der Stärkegelelektrophorese ein äußerst schwaches Muster vom Typus Hp 2—2 (Ausbildung von 2 Banden in der für diesen Typus charakteristischen Lokalisation) beobachten. Bei Konzentrationen von 20—30 mg-% war bei der Stärkegelelektrophorese ebenfalls noch ein sog. schwaches Muster diagnostiziert worden. Der Übergang in die häufige und üblicherweise beobachtete Form des Phänotypus Hp 2—2 ist fließend, ohne scharfe Zäsur, was dafür spricht, daß es sich hier tatsächlich um quantitative Varianten handelt (vgl. hierzu das Referat von WEIPPEL).

Da nach den Untersuchungen von ELOISE GIBLETT die modifizierten Muster Hp 2—1 mod. möglicherweise auf ein Allel Hp^{2m} (in der Kombination mit dem Allel Hp^1) zurückzuführen sind, nach einer Vermutung von MARGARETE NYMAN jedoch die *quantitativen* Unterschiede der Haptoglobinkonzentration genetisch gesteuert werden, wird man weitere detaillierte Untersuchungen, insbesondere Familienuntersuchungen abwarten müssen; eine endgültige Stellungnahme zu dieser Problematik ist noch nicht möglich. Es muß deshalb gerade bei der forensischen Beurteilung derartiger Befunde zunächst noch Vorsicht geübt werden. Wir halten es bei dieser Sachlage für zweckmäßig, in fraglichen Fällen die quantitative Haptoglobulinbestimmung zusätzlich heranzuziehen.

Die quantitativen Hp-Bestimmungen haben sich bei uns insbesondere dann bewährt, wenn die Frage zu klären war, ob ein Proband eine sog. Ahaptoglobulinämie besitzt. Unter bestimmten Bedingungen besteht nämlich die Gefahr, daß der Phänotypus Hp 1—1 mit einer derartigen Ahaptoglobulinämie verwechselt wird. Zur Differenzierung dieser Typen

eigenen Untersuchungen an den Familien der Probanden mit Ahaptoglobinämie haben ebenfalls noch keine Hinweise in dieser Richtung gegeben. Aus diesem Grund haben wir in dem Schema Abb. 4 die bisher diskutierte genetische Sonderstellung dieser Variante mit einem Fragezeichen versehen (vgl. hierzu insbesondere GIBLETT, GIBLETT et al., HARRIS et al., GALATIUS-JENSEN).

Wir brechen die Diskussion dieser Sonderfälle ab und möchten nur abschließend bemerken, daß hier noch sehr viele Fragen offen sind; sie bedürfen einer intensiven weiteren Bearbeitung. Bei der forensischen Verwendung des Hp-Systems sollten diese Sondertypen deshalb noch mit Zurückhaltung bewertet werden. Hinreichend sichere Aussagen können jedoch gemacht werden, wenn die beobachteten Phänotypen eindeutig den bekannten 3 Mustern angehören, die dann einen Rückschluß zulassen auf die zugrunde liegenden Genotypen.

Wir geben in Abb. 5 zusammenfassend nochmals ein Schema, das die Erweiterung des ersten genetischen Modells darstellt. Die Vielfalt der Beziehungen in diesem Schema deutet an, daß die Beurteilung der Haptoglobinfunde doch nicht so einfach ist, wie dies zunächst den Anschein hatte. Neben der Beherrschung der optimalen Bestimmungstechnik (einschließlich der im Einzelfall notwendig werdenden speziellen Methoden wie der quantitativen Bestimmung) wird man vom Sachverständigen, der die Haptoglobintypen im forensischen Fall anwendet, auch hier ein erhebliches Maß an persönlicher Erfahrung in der Beurteilung der Befunde fordern müssen.

Literatur

- ALLISON, A. C.: *Nature (Lond.)* **183**, 1312 (1959).
 BAITSCH, H.: *Anthrop. Anz.* **24**, 63 (1960).
 —, u. K. LIEBRICH: 1. und 2. Mitt. *Blut* **7**, 27 ff. (1961); hierin ausführliche Bibliographie.
 —, u. G. MEIER: *Blut* **5**, 302 (1959).
 —, —, L. SCHOELLER and D. M. KAHLICH-KOENNER: *Nature (Lond.)* **186**, 976 (1960).
 BEARN, A. G., and E. C. FRANKLIN: *Science* **128**, 596 (1958).
 — — *J. exp. Med.* **109**, 55 (1959).
 BLUMBERG, B. C., and A. C. ALLISON: *Ann. hum. Genet.* **23**, 349 (1959).
 FINE, J. M., u. A. BATTISTINI: *Experientia (Basel)* **16**, 57 (1960).
 GALATIUS-JENSEN, F.: *Acta genet. (Basel)* **8**, 248 (1958).
 GIBLETT, E. R.: *Nature (Lond.)* **183**, 192 (1958).
 —, and A. G. STEINBERG, *Amer. J. hum. Genet.* **12**, 160 (1960).
 HARRIS, H., E. B. ROBSON and M. SINISCALCO: *Nature (Lond.)* **182**, 1324 (1958).
 JAYLE, M. F., G. BOUSSIER et J. BADIN: *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* **34**, 1063 (1952).
 — — et J. TONNELAT: *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* **38**, 343 (1956).
 LAURELL, C. B.: *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **11**, 18 (1959).
 —, and M. NYMAN: *Blood* **12**, 493 (1957).

- NYMAN, M.: Serum Haptoglobin. Scand. J. clin. Lab. Invest. **11**, Suppl. 39 (1959).
 OWEN, J. A., H. J. SILBERMAN and C. GOT: Nature (Lond.) **182**, 1373 (1958).
 SMITHIES, O.: Biochem. J. **61**, 629 (1955).
 — Nature (Lond.) **175**, 307 (1955).
 — Biochem J. **71**, 585 (1959).
 —, and N. F. WALKER: Nature (Lond.) **176**, 1265 (1955).
 — — Nature (Lond.) **178**, 694 (1956).
 WIELAND, TH., u. G. PFLEIDERER: Angew. Chem. **69**, 199 (1957).

Institut für Anthropologie und Humangenetik der Universität
 Priv.-Doz. Dr. H. BAITSCH, München, Richard-Wagner-Straße Nr. 10

O. PROKOP, G. BUNDSCHUH und H. FALK (Berlin): Neue Ergebnisse auf dem Gebiete der Haptoglobine*. (Mit 3 Textabbildungen.)

Schon bald, nachdem die ersten Veröffentlichungen über die Haptoglobine in Deutschland bekannt wurden, haben wir uns mit der Materie befaßt und eigenes Familienmaterial zusammengetragen, um für die

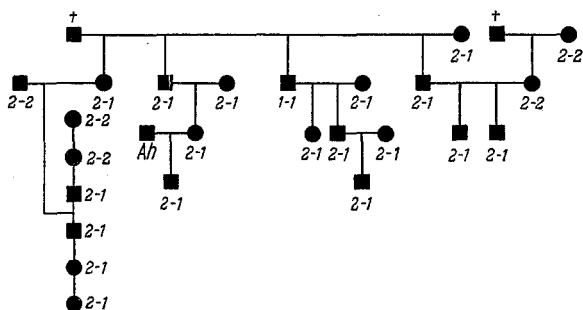


Abb. 1. Die Hp-Typen in einer Sippe

Begutachtung Erfahrungen und genügend Sicherheit zu erlangen. Wir halten das für die zur Zeit wichtigste Tätigkeit. Erfahrungen auf dem Rh-Gebiet lehren, wie leicht man sonst im Vertrauen auf zu kleines Zahlenmaterial begutachtet. Nach Jahren erst stellen sich die Fehler heraus. Wir erwähnen nur die sog. „Delitionschromosomen“ und das neue Rh-Gen hr^s von SHAPIRO, das eine wesentliche Erklärung dieser Phänomene im Lichte der Wiener Auffassung von der Vererbung (multiple Allele auf einem Rh-Genort) zuläßt.

Da in Deutschland unseres Wissens Familienmaterial über Hp in größerem Ausmaß noch nicht veröffentlicht worden ist, tragen wir unsere Familienuntersuchungen und Mutter-Kind-Paare vor. Eine große Familie mit drei Generationen zeigt die nachstehende Sippentabelle (Abb. 1).

Sie demonstriert anschaulich die kodominante Vererbung bei Annahme zweier Allele auf einem einzigen Locus. Aus unseren kompletten

* Die Zahlen wurden erweitert; Stand 1. November 1960.