

- 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. BARTSCH, München, Richard-Wagner-Straße Nr. 10

**O. PROKOP, G. BUNDSCUH 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

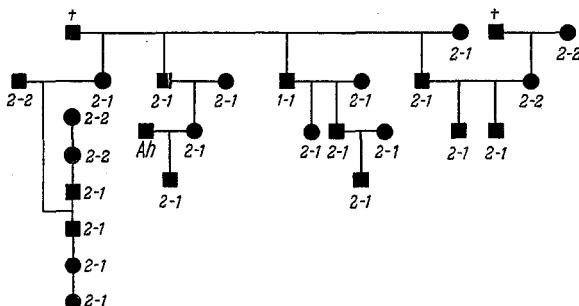


Abb. 1. Die Hp-Typen in einer Sippe

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<sup>s</sup>* von SHAPIRO, das eine wesentliche Erklärung dieser Phänomene im Lichte der Wienerschen 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.

Familien entnehmen wir die Mutter-Kind-Paare und fügen sie dem Zahlenmaterial bei, das nur aus den forensischen Mutter-Kind-Untersuchungen gewonnen wurde. Die kompletten und sicheren Familien geben wir in Tabelle 2 bekannt.

Bereits die Daten dieser Tabelle sind im Hinblick auf die Anwendbarkeit im Vaterschaftsgutachten sehr befriedigend. Entsprechend den Richtlinien des früheren RMI und dem Gutachten des Robert-Koch-Institutes stehen für die Ausschlußbegutachtung in forensischen Paternitätsfällen bekanntlich drei Ausschlußgrade zur Verfügung:

Vaterschaft offenbar unmöglich . . . . 99,8% Sicherheitsgrad (genauer 99,73%)  
 Vaterschaft sehr unwahrscheinlich . . . . 99,0% Sicherheitsgrad  
 Vaterschaft unwahrscheinlich . . . . 96,0% Sicherheitsgrad

Da sich aus den untersuchten Mutter-Kind-Paaren kein Indiz für eine Abweichung von der angenommenen Vererbung ableiten läßt, ist die Anstellung der Null-Ergebnisrechnung statthaft. Es kann analog dem MN-System, das uns bei der Vererbung der Haptoglobine als Modell dienen kann, vorgegangen werden. Hierzu können von unseren 923 Mutter-Kind-Paaren jedoch nur die Paarungen angewandt werden, bei denen reinerbige Mütter heterozygote Kinder haben, da nur dann, wenn das Kind die heterologe Eigenschaft vom Vater hat, eine serologische Abweichung im Sinne der entgegengesetzten Reinerbigkeit erkannt werden könnte. Da nur in der Hälfte der Fälle aber die abweichende Variante von der Mutter zu erwarten ist, muß die Zahl der geeigneten Fälle noch durch zwei geteilt werden.

Tabelle 1

923 Mutter-Kind-Paare		
Mutter	Kind	Anzahl
2—2	2—2	220
1—1	1—1	19
2—1	2—1	229
2—1	2—2	136
2—1	1—1	89
2—2	2—1	144
1—1	2—1	84
2—2	1—1	—
1—1	2—2	—
2—1	Ahapt.	1
Ahapt.	2—2	1

Um genügend Sicherheit für den Gutachtentenor „Unwahrscheinlichkeit“ zu erhalten, müßten wir — wir verweisen auf die Arbeit von HOPPE und HAIN 1955 — mindestens 126 Fälle mit einem Nullergebnis, d. h. ohne Abweichung haben. Wir haben aber schon 228. Folgen wir aber dem Verfahren, wie es NAGEL 1955 für das MN-System angegeben hat, nämlich die Zahl der geeigneten Fälle erst durch zwei zu teilen, so resultieren schließlich 114 Fälle. Folgen wir weiter seiner Rechnung, so würde dann (wir verweisen auf die Originalarbeit) ein Sicherheitsgrad von 95% resultieren, d. h. wir würden auf Grund unserer Mutter-Kind-Paare noch *nicht ganz* berechtigt sein, im Ausschlußfall den Tenor „unwahrscheinlich“ zu wählen. Wir hoffen indes, das Zahlenmaterial in Kürze genügend erweitert zu haben.

Unser Familienmaterial, das durch Untersuchung von AB0, MN und Rh gesichert ist (in vielen Fällen ist auch das Sekretorsystem untersucht) und bisher 135 Familien umfaßt, zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2

Anzahl der Paarungen	Paarungen	Anzahl der Kinder	Anzahl der Kinder						Besonderheiten	
			2—1		2—2		1—1			
			Erw. Gef.	Gef.	Erw. Gef.	Gef.	Erw. Gef.	Gef.		
26	2—1 × 2—1	53 (+ 1)	26,5	26	13,25	13	13,25	14	Eine „Ahaptoglobinämie“	
21	2—1 × 1—1	41	20,5	22	—	—	20,5	19	—	
58	2—1 × 2—2	116	58	54	58	62	—	—	—	
10	2—2 × 1—1	23	23	23	—	—	—	—	—	
19	2—2 × 2—2	37	—	—	37	37	—	—	—	
0	1—1 × 1—1	—	—	—	—	—	—	—	—	
1	Ahapt × 2—1 (67j. Frau, angeblich gesund)	1	—	1	—	—	—	—	—	

Diese Ergebnisse werden — bis auf zwei Fälle — dem Sachkenner die Fälle der sog. Ahaptoglobinämie vermissen lassen. Desgleichen fragt man sich, wo in unserem relativ großen Material die Fälle von inkompatibler Homozygotie zwischen Mutter und Kind verbleiben, über die HARRIS u. Mitarb. 1958 berichteten.

Schon 1959 wurde das Problem der Existenz sog. „silent alleles“ recht unwahrscheinlich, als MÄKELÄ, ERIKSSON und LEHTOVAARA ihre Verteilungszahlen bekanntgegeben hatten, und obwohl sie unter 22 Mutter-Kind-Paaren keinen Mutter-Kind-Ausschluß infolge inkompatibler Homozygotie feststellten, schätzten sie die Frequenz eines hypothetischen „silent allele“ auf ungefähr 0,02 ein.

Die Frequenz eines irrtümlichen Vaterschaftausschlusses bei gegensätzlicher Homozygotie Präsumptivvater und Kind wird mit etwa 0,01 geschätzt. Es wurden dagegen Personen gefunden, welche unentwickelte Haptoglobine zu besitzen schienen, die sog. „undeveloped types“. Dabei handelte es sich um gesunde Personen, meist mit einem 2—1-Elternteil. Die Annahme eines Gens  $Hp^0$  in der Kombination  $Hp^1 Hp^0$  oder  $Hp^2 Hp^0$  war naheliegend. Zwei solcher Träger konnten von MÄKELÄ u. Mitarb. nach 4 Monaten wieder geprüft werden, und einer davon erwies sich als schwacher 2—2-Typ, der andere wieder als „undeveloped“. Es wurde geschlossen, daß wahrscheinlich eine Schwäche in der Entwicklung der Haptoglobine vorliegen könne oder vielleicht ein zu starker Verbrauch.

Auch die Mitteilung von GALATIUS-JENSEN (1958) läßt vermuten, daß das Fehlen von Hp-Banden eine große Seltenheit ist. So fand sich bei einer Mutter einmal eine Ahaptoglobulinämie, aber schon nach einem Jahr konnten — wenn auch schwache — 2—2-Banden festgestellt werden.

Für die Fälle, die nicht durch den Fund einer charakteristischen Bande geklärt werden konnten, wurde die hilfsweise Vorstellung angenommen, daß ein Suppressoren wirksam sein könnte.

Während die sog. „Ahaptoglobinämien“ in unserem Material in der Anfangszeit unserer Testung sehr häufig zu sein schienen, gingen sie sehr bald zurück, und es ist bezeichnend, daß auch andere Untersucher überhaupt nicht mehr davon sprechen. In den Mitteilungen von BAITSCH und MEIER, SCHOELLER und KAHLICH-KOENNER 1960 sowie in unseren Mitteilungen von BUNDSCUH und FALK sowie FRITZ und SIMON wie auch im Material von DÜRWALD und in den Zahlen von SERFAS aus unserem Institut scheinen „Ahaptoglobinämien“ oder „undeveloped types“ nicht auf.

Auch BÜTLER u. Mitarb. sprechen nicht von einschlägigen Fällen, dagegen werden von MATSUNAGA und MURAI unter 568 Fällen in Japan 8 Fälle beschrieben, wo die Haptoglobine schlecht oder nicht demonstrierbar waren.

Die Annahme eines  $Hp^0$ -Gens verbietet sich in den Fällen, in welchen die Eltern des Kindes beide 2—1 tragen oder aus den Kindern erschlossen werden muß, daß jeweils von dem angeblichen  $Hp^0$ -Träger das Gen  $Hp\ 1$  und das Gen  $Hp\ 2$  vererbt worden sein müssen. Auch kann bei Nicht-nachweisbarkeit von Haptoglobinbanden nicht ohne weiteres auf  $Hp^0/Hp^0$  geschlossen werden. Das zeigt die nachstehende Sippentafel (Abb. 2).

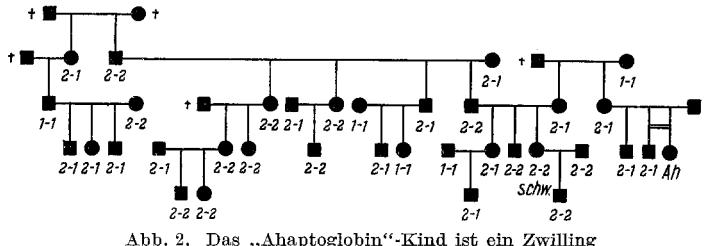


Abb. 2. Das „Ahaptoglobin“-Kind ist ein Zwilling

Hier mußte aus den ehelichen Kindern erschlossen werden, daß der Träger der „Ahaptoglobinämie“ entweder ein Hp 1- oder ein Hp 2-Gem oder beide ererbt hat. Wir halten es für wahrscheinlich, daß bei späterer Nachuntersuchung bei unserem Probanden die Haptoglobinbanden auftreten. Die Tatsache, daß wir bei Beginn unserer Haptoglobinstudien so zahlreiche „Ahaptoglobinämien“ fanden, ist aber geklärt worden, und wir vermuten, daß das allmähliche Abrücken der Autoren von diesen Beobachtungen, wenigstens zum Teil, eine einfache Erklärung findet:

SPEISER hat zusammen mit GAMRITH 1951 Rh-Seren eingefroren. Wieder aufgetaute Seren wurden dann in Capillaren gefüllt und in senkrechter Stellung an den Kühlrippen eines Frigidaire eingefroren. Nach 24 Std wurde das Serum wieder entnommen, die Capillaren wurden in bestimmten Etagen abgefeilt und die Titer bestimmt. Es war eine gewaltige Entmischung eingetreten. In den obersten Schichten waren Kochsalzantikörper überhaupt nicht mehr nachweisbar, die Antikörper waren in der untersten Schicht, und interessanterweise noch nicht einmal angereichert, vorhanden.

Wir bringen die Tabelle aus der Arbeit der Autoren wegen der großen Bedeutung des Phänomens.

Tabelle 3. 1. Serum Ko. Titerkontrolle — Albumin: 1:65536 NaCl: 1:32 (Nach GAMRITH und SPEISER)

	Schicht	Rh-Immunkörper-titer in		Länge der Schicht in mm <sup>1</sup>
		Albumin	NaCl	
Schicht	I oben	1: 64	0	27 spitz
	II	1: 32	0	18
	III	1: 8	0	11
	IV	1: 8	0	11
	V	1: 1024	1:16	19
	VI	1: 4096	1:16	10
	VII	1:16384	1:32	9
	VIII	1:65536	1:32	20 spitz

<sup>1</sup> Trotz Anfeilen der Pipette in Abständen von 1 cm ist eine genaue Schichtlänge durch Zerbrechen nicht erreicht worden.

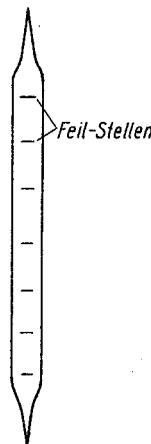


Abb. 3

Wir haben daran gedacht, daß auch bei den Haptoglobinbestimmungen dieses Phänomen eine Rolle spielen könnte. Um vergleichbare Ergebnisse zu den Arbeiten von GAMRITH und SPEISER zu erhalten, haben wir nach Art der Antikörpertestung der Blutgruppenserologie Seren austitriert und die einzelnen Titerstufen mit etwas Hämoglobin angereichert und geprüft, ob die Haptoglobine noch in Erscheinung treten. Es zeigte sich ein „Haptoglobintiter“ von 1:4 bis etwa 1:64. Die Testergebnisse von Seren waren folgende (Tabelle 4).

Wenn man bedenkt, daß bei einem Albumintiter von 1:65536 in SPEISERS Versuch der Titer um den Quotienten 1000 und mehr in 24 Std abgefallen war, wird man sofort sehen, wie bedenklich sich Veränderungen bemerkbar machen müssen, wenn man schon so niedrige Ausgangstiter hat wie bei den Haptoglobinen.

Die Erfahrung an den Haptoglobinen bestätigte das sofort. Von einem befreundeten Institut bekamen wir eine Fülle von Seren zur Hapto-

globinbestimmung. Wir hatten zahlreiche „Ahaptoglobinämien“. Die Rückfrage ergab, daß die Seren fast sämtlich eingefroren waren.

Da wir der Meinung waren, daß die Entmischung der Seren längere Zeit anhält, wenn — wie in SPEISERS Versuch — die Seren in Capillarpipetten eingefroren werden, führten wir eigene Versuche mit Röhrchen durch, die eine lichte Weite von etwa 1 cm hatten. Es stellte sich heraus, daß bei schnellem Einfrieren auf  $-20^{\circ}\text{C}$  bei allen Typen praktisch keine Entmischung eingetreten war. Nach dem Auftauen waren die Haptoglobine in der obersten Schicht etwas schwächer, in der untersten etwas stärker nachweisbar. Bei langsamem Einfrieren innerhalb von 10 Std bis etwa  $-8^{\circ}\text{C}$  erfolgte eine Entmischung

schon während des Einfrierens.

Die eingefrorenen Seren wurden nach zwei Tagen (andere nach längerer Zeit) wieder aufgetaut, und mit der Pipette — der Reihe nach von oben — wurden fünf Schichten abgehoben. Dann erfolgte Anreicherung mit Hämoglobin. Erfolg: In den beiden oberen Schichten war wenig oder

kein Haptoglobin nachweisbar, in der Mitte gaben die Schichten annähernd normale Bilder, in den unteren Schichten war eine leichte Verstärkung aufgetreten. 2—2-Typen, welche bekanntlich häufiger ein zartes Haptoglobusbild geben, erwiesen sich bei diesen Experimenten als am empfindlichsten. Sie haben ja auch den relativ niedrigsten Haptoglobintiter. Die Tabelle zeigt im übrigen etwas sehr Interessantes. Die Hp 2—1-Titer liegen zwischen 1—1 und 2—2. Die von uns vermutete Tendenz, daß auch der Hp-Titer erblich sein könne, ist durch unsere wenigen Testungen noch nicht widerlegt, im Gegenteil. H. FALK wird dazu einige Stammbäume veröffentlichen. Daß Nabelschnurblute fast stets noch keine Haptoglobine enthalten, ist schon von GALATTIUS-JENSEN mitgeteilt worden. Von 143 von uns untersuchten Nabelschnurbluten hatten 131 Seren noch keine Haptoglobine, die restlichen zwölf mehr oder weniger deutliche, davon einige (fast die Hälfte) durchaus nicht konkordant dem mütterlichen Serum, so daß man an „Leihhaptoglobine“ denken könnte. Das stimmt mit den Ergebnissen von KAHLICH-KOENNER und WEIPPL (1960) überein.

Offenbar geht das Ausreifen der Haptoglobine *sehr rasch* vonstatten. Studien über das Tempo sind im Gange. Aus diesen Ausführungen sieht man, daß unser Bemühen darauf gerichtet werden muß, ganz allgemein die Nachweismethoden für die Haptoglobine empfindlicher zu gestalten. Wenn es zuverlässig gelingt, die spezifische Antigenität der Hapto-

Tabelle 4

Titer	Seren von 2—2- Trägern	Seren von 2—1- Trägern	Seren von 1—1- Trägern
1:2	—	—	—
1:4	4	1	—
1:8	7	3	1
1:16	6	5	1
1:32	—	6	3
1:64	—	1	1
1:128	—	2	—

globine zu ermitteln, wäre das von Vorteil. Interessanterweise haben die verschiedensten Experten der international bekannten Forschungsstätten auf dem VIII. Internationalen Kongreß für Bluttransfusion in Tokio Zurückhaltung geübt, wenn darüber gesprochen wurde. Naturgemäß wird man, den Erfahrungen der Blutgruppenserologie folgend, versuchen, Blutkörperchen nach einer der bekannten Methoden, z. B. nach dem Boyden-Verfahren, mit Haptoglobinen zu beladen und mit spezifischen Antiseren zu präzipitieren. Das wäre unter Umständen der Ausgangspunkt für empfindliche Hemmtests.

Der Versuch, gereinigte spezifische Haptoglobine herzustellen, gegen die präzipitierende Antikörper über Mitteltiere präpariert werden können, ist uns bisher nicht gelungen. Wir setzen große Hoffnung auf die Cohnsche Fraktion IV als Ausgangsprodukt. Untersuchungen von SMITHIES, CONNELL und DIXON an gereinigten Haptoglobinen lassen vielleicht auch befürchten, daß die Aussicht, einmal in Zukunft mit Präcipitationsmethoden in der gerichtsmedizinischen Praxis zu arbeiten, nicht sehr groß ist, zumal der heterozygote Typ nicht einer Mischung von Hp 1—1 und Hp 2—2 äquivalent ist. Enzymatische Abbaustudien mit  $\alpha$ -Chymotrypsin und Trypsin zeigen, daß eine Serie von Peptiden beiden homozygoten Typen gemeinsam ist, doch existiert ein charakteristisches Peptid in Hp 1—1, das in Hp 2—2 durch ein anderes Peptid ersetzt ist. Letzteres zeigt nach enzymatischem und Säureaufschluß einen Histidin- und Tyrosinrest, der im äquivalenten Peptid von Hp 1—1 fehlt.

#### *Literatur*

- BAITSCH, H., G. MEIER, L. SCHOELLER and D. M. KAHLICH-KOENNER: Frequencies of the haptoglobin serum groups among blood donors from Austria and Germany. *Nature (Lond.)* **186**, No 4729, 976 (1960).
- BÜTLER, R., S. ROSIN u. M. WALTER: Untersuchungen über die Haptoglobin-gruppen nach SMITHIES. *Schweiz. Med. Wschr.* **347** (1960).
- BUNDSCHEID, G., u. H. FALK: Die Wahrscheinlichkeitswerte nach ESSEN-MÖLLER für die Haptoglobinmerkmale mit weiteren Frequenzangaben. *Blut* **6**, 363 (1960).
- GALATIUS-JENSEN, F.: Rare phenotypes in the Hp system. *Acta genet. (Basel)* **8**, 248 (1958).
- GAMRITH, J., u. P. SPEISER: Über Titeränderungen der Antikörper im Rhesus-system und den AB0-Gruppen. *Klin. Med.* **9**, 6, 400 (1951).
- HARRIS, H., E. B. ROBSON and M. SINISCALCO: Atypical segregation of haptoglobin types in man. *Nature (Lond.)* **182**, No 4645, 1324 (1958).
- HOPPE, H. H., u. E. HAIN: Zum Beweiswert der Blutgruppenuntersuchung im Vaterschaftsprozeß mit besonderer Berücksichtigung des Rh-Systems. *Z. Hyg. Infekt-Kr.* **141**, 429 (1955).
- KAHLICH-KOENNER, D. M., u. G. WEIPPL: Haptoglobin-Typen beim Neugeborenen. *Wien. klin. Wschr.* **72**, 39, 674 (1960).
- MÄKELÄ, O., A. W. ERIKSSON and RAIMO LEHTOVAARA: On the inheritance of the haptoglobin serum groups. *Acta genet. (Basel)* **9**, 2, 149 (1959).
- MATSUNAGA, E., and KYOGO MURAI: Genetic study of haptoglobin types. VIII. Congr. of the Intern. Soc. of Blood Transfusion, Tokyo 12.—15. Sept. 1960.

- NAGEL, V.: Über den Beweiswert der klassischen Blutgruppem der MN-Faktoren und der A-Untergruppen. *Z. Hyg. Infekt.-Kr.* **142**, 2, 177 (1955).
- SERFAS, O., u. G. SCHUBERT: Zur Hp-Verteilung im Raum Berlin. *Blut* **6**, 304 (1960).
- SHAPIRO, M.: Serology and genetics of a "new" blood factor hrs. *J. forensic Med.* **7**, 96 (1960).
- SMITHIES, O., G. E. CONNELL and G. H. DIXON: Studies of gen action in the haptoglobin system. The VIII. Congr. of the Intern. Soc. of Blood Transfusion, Tokyo 12.—15. Sept. 1960.

Prof. Dr. med. O. PROKOP, Berlin, Hannoversche Str. 6  
Institut für gerichtliche Medizin der Humboldt-Universität

**D. M. KAHLICH-KOENNER und G. WEIPPL (Wien): Quantitative Haptoglobinbestimmungen. (Mit 1 Textabbildung.)**

Quantitative Haptoglobin-Untersuchungen in Verbindung mit der Haptoglobin-Typenbestimmung führen im frühen Kindesalter, bei neu-geborenen und frühgeborenen Kindern einerseits zu einer Reihe wesentlicher neuer Erkenntnisse, andererseits tauchen wieder neue Fragen auf. Die wichtigsten Ergebnisse und Probleme dieser Untersuchungen sollen übersichtsartig dargestellt werden.

Über die *Haptoglobin-Konzentration beim Neugeborenen* ist seit langem bekannt, daß im Nabelschnurserum meist kein Haptoglobin gefunden wird (POLONOVSKI u. a.). Bei Einzeluntersuchungen in den ersten Lebenstagen fand NYMAN rasch ansteigende Werte. Durch fortlaufende Bestimmungen in der ersten Lebenswoche kann dieser Anstieg verfolgt werden, wobei sich zeigt, daß das Neugeborene am 7. Lebenstag annähernd normale Werte erreicht (KAHLICH-KOENNER u. WEIPPL). Bei Neugeborenen, die wegen eines Icterus gravis einer Blutaustauschtransfusion unterzogen wurden, sind die prinzipiellen Verhältnisse nicht anders. Der sofort nach dem Austausch vorhandene Wert von Haptoglobin ist durch das verwendete Spenderblut bedingt, und der anschließende rasche Abfall ist auf die noch vorhandene Hämolyse zurückzuführen. Der weitere Anstieg verläuft wie beim normalen Neugeborenen.

Bisher noch nicht bekannte, völlig andere Verhältnisse finden sich bei *frühgeborenen* Kindern. Abb. 1 zeigt die Haptoglobin-Konzentration im Laufe der ersten Lebensmonate bei Frühgeborenen der mittleren Gewichtsgruppe, zwischen 1400 g und 1900 g Geburtsgewicht. In den ersten Lebensmonaten ist die Haptoglobin-Konzentration kaum meßbar, erst im 3. Lebensmonat setzt ein Anstieg ein. Das Haptoglobin unterscheidet sich darin nicht von anderen Serum-eiweißkörpern bei Frühgeborenen, die  $\gamma$ -Globuline (LINNEWEH) und das Transferrin zeigen ein weitgehend ähnliches Verhalten. Die Verminderung dieser Eiweißkörper beruht auf einer verminderten Bildung. Damit erhebt sich die bisher noch nicht gelöste Frage nach der Ursache der niederen Haptoglobin-Konzentration bei neugeborenen und frühgeborenen Kindern. Ist es ein erhöhter Verbrauch oder eine verminderte Bildung? Beim normal-