

## Die Vererbung der Quantität einiger Serumproteinfraktionen des Menschen

### 1. Untersuchung an Gutachtenmaterial mittels densitometrischer Auswertung von Pherogrammen der Hochspannungsstärkeelektrophorese

Steffen Gußmann und Friedrich Schwarzfischer

Mitarbeit bei der statistischen Auswertung: Wolfgang Werk

Institut für Anthropologie und Humangenetik der Universität München (BRD)

Eingegangen am 5. Januar 1973

#### The Heredity of Quantity of Some Serumproteinfractions of Man

##### 1. Similarity Comparison on Families, Applicating the $\chi^2$ -test on Expert Material

*Summary.* Pherogrammes of human sera of high voltage starch gel electrophoresis are evaluated densitometrically. The relative concentration of some proteins is found out through planimetry. The heredity of quality of the proteinfractions is represented by means of similarity comparison on families applicating the  $\chi^2$ -test on expert material.

*Zusammenfassung.* Serumpherogramme der Hochspannungsstärkeelektrophorese werden densitometrisch ausgewertet und durch Planimetrieren die relative Konzentration einiger Serumproteine berechnet. An Hand eines Ähnlichkeitsvergleichs mittels  $\chi^2$ -Tests an Familien aus Gutachtenmaterial wird die Vererbung der Quantität einiger Serumproteinfraktionen des Menschen dargestellt.

*Key words:* Blutgruppenserologie, Vererbung der Quantität von Serumproteinfraktionen — Serumproteinfraktionen, Vererbung der Quantität.

Mit Hilfe spektralphotometrischer Trübungsmessungen von Antigen-Antikörper-Aggregaten bestimmen Schultze u. Schwick 1958 und 1959 [12, 13] quantitativ acht Proteine im Humanplasma.

Schon in dieser ersten Veröffentlichung wird darauf hingewiesen, daß beim gesunden Erwachsenen die gefundenen Mengen der Proteinfraktionen mit jeweils unterschiedlichem Streubereich relativ konstant bleiben [1, 11, 14]. Größere Schwankungen werden allerdings von diesen Autoren in den ersten Lebenstagen und im Alter beobachtet.

Diese Befunde und die mehrfach in der Literatur beschriebene erblich bedingte geringere Konzentration bzw. die Erblichkeit eines Mangels verschiedener Proteinfraktionen [3, 4, 8—10, 15] gab Anlaß zu überprüfen, ob nicht im physiologischen Streubereich die unterschiedliche mengenmäßige Verteilung der Serumproteinfraktionen als Gesamtmosaik vererbt wird.

### Material und Methoden

Untersucht wurden zwei verschiedene Stichproben aus Gutachten strittiger Vaterschaft:

a) Frisch, d. h. spätestens 5 Std nach der Entnahme, wurden die Serumproben aus erb-biologischen Gutachten der Elektrophorese unterworfen.

b) Nach einer Lagerung von mindestens 8 Tagen bei Zimmertemperatur wurde das Probenmaterial aus serologischen Gutachten untersucht.

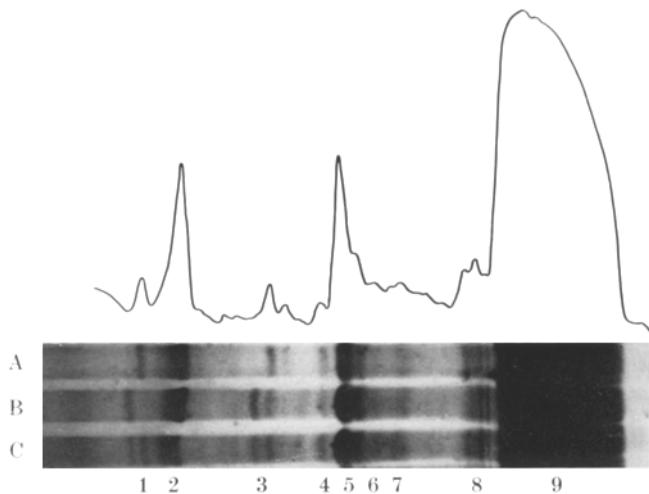


Abb. 1. Auftrennung und densitometrische Auswertung von Humanserum. Phänotypen: A: C'3 = 1; Gc = 2—1. B: C'3 = 2—1; Gc = 1. C: C'3 = 2; Gc = 1. Fraktionen: 1  $\beta_1$ C-Globulin, 2  $\alpha_2$ -Makroglobulin, 3  $\beta_{1A}$ -Globulin, 4 2. Posttransferrin, 5 Transferrin, 6 3. Postalbumin, 7 Coeruloplasmin, 8 Gc, 9 Albumin

Aus diesem Grunde enthält die erste Stichprobe Messungen am  $\beta_1$ C-Globulin, während im zweiten Falle nur noch das Konversionsprodukt  $\beta_{1A}$  erfaßt wurde.

Der Albuminspiegel ist umweltabhängig [6]. Bei der hier durchgeföhrten Berechnung wurde deshalb das Albumin eliminiert.

Die Elektrophorese wurde in der von Azen u. Mitarb. 1969 angegebenen Arbeitsmethode durchgeföhr. Hierzu wurde ein an anderer Stelle beschriebenes Gerät verwandt [5]. Die mit Amidoschwarz 10B gefärbten Stärkephrogramme wurden anschließend densitometrisch ausgewertet und planimetriert.

Abb. 1 zeigt die Auftrennung von Humanserum mit dieser Methode und eine densitometrische Auswertung. Die Übereinstimmung zwischen Vater und Kind bzw. Mutter und Kind wurde mittels des  $\chi^2$ -Tests überprüft. Alle Werte wurden als Mittel aus zwei Messungen gewonnen<sup>1</sup>.

### Untersuchungen

Um zu überprüfen, welchen Einfluß Alterungsprozesse im Probenmaterial auf das Ergebnis der densitometrischen Auswertung haben, wurden 9 verschiedene Serumproben nach unterschiedlich langer Lagerung aufgetrennt.

Als Beispiel zeigt Tabelle 1 das Ergebnis einer solchen Untersuchung einer Serumprobe. Welche Abweichung bei einer Alterung der Proben nach 5 und 10 Tagen beobachtet wurde, zeigt Tabelle 2.

Mittels  $\chi^2$ -Test wurden hier die ermittelten Zahlenwerte der relativen Konzentration der Serumproteinfraktionen auf Ähnlichkeit überprüft. Hierzu wurden die Meßergebnisse aus frischen Seren ( $P_1$ ) als erwarteter Wert, die an gealterten Seren ( $P_2$  und  $P_3$ ) als beobachteter Wert angenommen. Die Berechnung der Abweichung ergab, daß die Prozentwerte der Fraktionen mit einem Fehler, der bei maximal  $\pm 3,5\%$  liegt und methodisch bedingt ist, konstant bleiben.

<sup>1</sup> Die Summe der Meßwerte in den Tabellen ergibt deshalb meist nicht 100%. Detaillierte Angaben über statistische Methoden sollen an anderer Stelle dargelegt werden.

Tabelle 1. Mengenmäßiger Anteil der einzelnen Fraktionen in Prozent nach unterschiedlich langer Lagerung bei 18°C

Lagerung	$\beta_{1C}$	$\alpha_2M$	$\beta_{1A}$	2PT	Tf	2PA	Gc	Alb
5 Std	0,9	2,1	0,4	0,1	5,0	0,6	2,9	87,6
4 Tage		2,5	1,5	0,1	5,2	0,3	3,0	87,1
8 Tage		2,4	1,3	0,09	5,6	0,2	2,5	87,8
12 Tage		3,6	1,6	0,1	4,8	0,1	2,8	86,6

Tabelle 2. Die densitometrische Auswertung von 9 Serumproben nach verschiedenen langer Lagerung bei 18°C

	Probe Nr.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\Sigma \chi^2: P_1/P_2^a$	3,5	6,5	6,5	1,1	4,2	2,4	1,4	0,4	7,0
$\Sigma \chi^2: P_1/P_3$	—	—	8,9	7,3	8,7	5,1	4,5	—	10,7

<sup>a</sup>  $P_1$ : frisches Serum,  $P_2$ : 5 Tage altes Serum,  $P_3$ : 10 Tage altes Serum.

Tabelle 3

Beispiel einer Berechnung der Elter/Kind-Ähnlichkeit (Erbbiologisches Vaterschaftsgutachten)

	Prozent							Summe $\chi^2$
	$\beta_{1C}$	$\alpha_2M$	$\beta_{1A}$	PT	Tf	PA	Gc	
Fall 1. Ähnlichkeit zwischen Kd und KM ( $\chi^2 > 67,24$ )								
Kd	56,4	424,3	54,9	18,5	272,4	49,6	134,8	
Bkl. (a)	51,5	258,9	137,1	7,3	375,0	53,0	116,8	
$\chi^2$	0,2	106,0 <sup>a</sup>	49,1 <sup>a</sup>	16,7 <sup>a</sup>	27,9 <sup>a</sup>	0,2	2,7	203,2 <sup>a</sup>
Kd	56,4	424,3	54,9	18,5	272,4	49,6	134,8	
Bkl. (b)	91,6	202,5	88,4	22,8	431,8	50,4	110,8	
$\chi^2$	14,3 <sup>a</sup>	243,2 <sup>a</sup>	12,6 <sup>a</sup>	0,8	58,8 <sup>a</sup>	0,01	5,2	338,5 <sup>a</sup>
Kd	56,4	424,3	54,9	18,5	272,4	49,6	134,8	
KM	48,0	368,8	71,4	23,8	312,8	52,3	118,4	
$\chi^2$	1,1	8,3	3,7	1,2	5,2	0,14	2,2	22,0
Fall 2. Ähnlichkeit zwischen Kd und Bkl ( $\chi^2 > 67,24$ ) (Serologisches Gutachten)								
Kd	369,2	120,6	10,0	375,0	73,6	51,4		
Bkl	384,3	135,8	10,2	319,2	79,1	79,1		
$\chi^2$	0,59	1,6	0,0	9,7	0,3	11,0 <sup>a</sup>	23,4	
Kd	369,2	120,6	10,0	375,0	73,6	51,4		
KM	310,3	238,7	94,1	339,5	31,0	83,5		
$\chi^2$	11,1 <sup>a</sup>	54,7 <sup>a</sup>	0,04	3,7	58,3 <sup>a</sup>	12,3 <sup>a</sup>	140,4 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup> Signifikante Abweichung von  $\chi^2$ .

Die Tabelle 3 zeigt als Beispiel eine Berechnung von Elter/Kind-Ähnlichkeiten in zwei verschiedenen Vaterschaftsgutachten.

Es wurden mit dieser Methode 30 serologische und 20 erbbiologische Gutachten berechnet (Tabelle 4). Mittelwerte, Streubreite und mengenmäßiger Anteil in mg/100 ml sind in den Tabellen 5 und 6 angegeben. Ein aus der Literatur ermittelte Durchschnittswert ist unseren Berechnungen gegenübergestellt.

Tabelle 4. Als Ähnlichkeitsprüfung der Konzentration der Serumproteinfraktionen  $\chi^2$ -Werte aus 30 serologischen und 20 erbiologischen Gutachten

Nr.	$\Sigma \chi^2$ KM/Kd	$\Sigma \chi^2$ 1. Bkl/Kd	$\Sigma \chi^2$ 2. Bkl/Kd
1	338,0	30,4	—
2	116,0	<b>173,0</b>	—
3	145,0	51,4	—
4	20,0	299,0	—
5	286,0	48,0	—
6	62,9	566,3	—
7	138,0	<b>341,1</b>	—
8	117,0	45,0	—
9	63,3	344,2	—
10	12,7	458,7	—
11	322,0	<b>223,6</b>	—
12	24,6	314,9	—
13	10,1	531,9	—
14	37,0	237,6	—
15	32,8	82,0	—
16	3,8	73,6	—
17	10,1	102,4	100,3
18	117,5	12,7	—
19	76,3	22,1	—
20	24,2	<b>103,8</b>	—
21	14,0	350,3	—
22	138,8	11,4	—
23	35,9	259,7	—
24	103,9	59,0	—
25	46,8	389,8	226,8
26	60,2	<b>256,1</b>	—
27	140,4	23,4	—
28	226,8	53,8	—
29	22,0	203,2	338,5
30	54,4	132,6	—
31	80,1	44,6	—
32	256,5	14,7	—
33	113,5	20,8	—
34	279,6	<b>159,6</b>	—
35	151,8	65,4	—
36	18,5	265,3	—
37	105,9	22,7	—
38	365,5	16,9	<b>293,7</b>
39	53,3	227,0	—
40	115,0	<b>45,4</b>	—
41	111,0	15,6	—
42	52,2	545,0	—
43	55,3	136,5	—
44	14,3	577,5	—
45	126,1	29,9	<b>300,1</b>
46	48,3	160,0	—
47	21,7	100,1	—
48	70,3	19,6	—
49	21,9	443,8	—
50	22,3	138,4	—

Bei den unterstrichenen  $\chi^2$ -Werten handelt es sich um Gutachten, bei denen keine Ähnlichkeit zur Mutter und einem Eventualvater festgestellt wurde ( $\chi^2 > 67,24$ ). Der Ausschluß des fraglichen Vaters konnte in jedem Falle durch andere Befunde in den Gutachten bestätigt werden.

Tabelle 5. Mittelwert und Streubreite der densitometrisch ermittelten Prozentwerte einzelner Serumproteinfaktionen

Fraktion	$\beta_1C^a$	$\beta_1A^a$	$\beta_1A^b$	$\alpha_2M$
Zahl der Probanden	60	60	80	100
Mittelwert	95,41	54,72	113,4	291,0
Streuung	27—199	10—121	48—235	150—470

Fraktion	PT	Tf	PA	Ge
Zahl der Probanden	100	100	100	100
Mittelwert	21,35	368,43	54,99	123,2
Streuung	4—52	208—535	23—129	31—201

<sup>a</sup> Werte aus erbbiologischen Gutachten.<sup>b</sup> Werte aus serologischen Gutachten.

Tabelle 6. Vergleich unserer Daten mit Werten aus Arbeiten von Störiko [14]

Fraktionen	Störiko [14] (mg/100 ml)	Mittelwerte aus dieser Arbeit			
		mg/100 ml	%	mg/100 ml	mg/100 ml
Gc + $\alpha_2HS$	40 + 60	70—100	123	101,5	26—180
$\alpha_2M$	260	150—420	291	246,0	125—400
$\beta_1A$	110	80—140	150	124,0	25—165
Tf	295	200—400	368	301,0	180—445

Tabelle 7. Anzahl der abweichenden Konzentrationen in unserer Stichprobe. Überschreitung des Grenzwertes von  $\chi^2 = 10$  bei einzelnen Fraktionen in unserer Stichprobe ( $N = 50$ )

Fraktion	$\beta_1C$	$\alpha_2M$	$\beta_1A$	Pt	Tf	PA	Gc	Summe
Anzahl	1	11	7	4	3	3	7	36

### Diskussion

Zur Überprüfung der Ähnlichkeit mit dem  $\chi^2$ -Test ergibt sich für  $df = 6$  auf dem 1 %-Niveau der kritische Wert 16,81. Dieser Wert entspricht der praktisch ermittelten Fehlergrenze unserer Arbeitsmethode von  $\pm 3,5\%$ . Es ist folglich zulässig, bei einer Abweichung von maximal 14 % noch auf Ähnlichkeit zu schließen, da die Zahlenwerte beider Probanden mit diesem Fehler behaftet sein können. 14 % ergäben einen methodisch bedingten maximalen Fehlerwert für  $\chi^2$  von 67,24.

Tabelle 4 zeigt, daß dieser Grenzwert beim Vorhandensein einer Ähnlichkeit zwischen Mutter und Kind, aber auch zwischen Vater und Kind in unserer Stichprobe in keinem Falle überschritten wurde. Ein Vergleich von 150 untereinander nicht verwandten Personen mit dieser Methode ergibt bei einer Variationsbreite von  $\chi^2 = 100$  bis  $\chi^2 = 800$  einen Mittelwert von  $\chi^2 = 245$ . Zum Vergleich hierzu errechnet sich als Mittelwert bei den mit großer Wahrscheinlichkeit untereinander

nicht verwandten Eltern unserer Stichprobe bei der gleichen Streuung ein  $\chi^2$ -Wert von 251.

Diese Übereinstimmung kann ebenso wie das Fehlen von Werten zwischen  $\chi^2 = 67,24$  und  $\chi^2 = 100$  bei der Berechnung von Elter/Kind-Ähnlichkeiten als Hinweis für die Erblichkeit der relativen Konzentrationen der Serumproteine angesehen werden.

Aus den Tabellen 3 und 4 ist ersichtlich, daß der  $\chi^2$ -Test immer nur mit einem der Eltern einen Wert unter 67,24 ergibt, d. h., daß die Konzentrationen der Serumproteinfraktionen nur mit einem Elternteil Ähnlichkeiten aufweisen. Als Ausnahmen sind hier die in Tabelle 4 gezeigten Ausschlüsse von Eventualvätern zu erwähnen, die sämtlich durch andere Befunde bestätigt werden konnten!

Der kritische  $\chi^2$ -Wert der einzelnen Serumproteinfraktion liegt beim Vorhandensein einer Ähnlichkeit erfahrungsgemäß unter  $\chi^2 = 10$ . Ein oder zwei Werte können dieses Limit gelegentlich überschreiten (Tabelle 7). Dies könnte dem Umstand zugeschrieben werden, daß bei vielen Erkrankungen die Konzentration einzelner Serumproteinfraktionen erhöht sein kann. Die Überprüfung mit dem  $\chi^2$ -Test zeigt, daß diese Abweichungen bei unseren äußerlich gesunden Probanden niemals bewirken, daß beim Vorliegen einer Ähnlichkeit mit dem Kinde das Limit von 67,24 deswegen insgesamt überschritten wird (vgl. Tabellen 3 und 4).

Nach einer Lagerung der Serumproben von 5 Tagen verändern sich nach unseren Berechnungen die Konzentrationen nicht. Allerdings ist deutlich zu erkennen, daß bei einer Lagerung von 10 Tagen die Abweichungen zunehmen.

Ähnlichkeiten zum Kind sind zwischen Vater und Kind 20mal, zwischen Mutter und Kind 26mal beobachtet worden. In 4 Fällen wurde weder zur Mutter noch zum mutmaßlichen Vater eine Ähnlichkeit festgestellt. Daß ein Kind zu beiden Eltern eine Ähnlichkeit aufweist, wurde nicht beobachtet.

Die  $\chi^2$ -Verteilung bei den Werten unter 67,24 zeigt eine deutliche Zweigipfligkeit (Abb. 2). Bei Gleichgeschlechtlichkeit von Elternteil und Kind errechnet sich ein niedrigerer Durchschnittswert (26,3) als bei unterschiedlichem Geschlecht

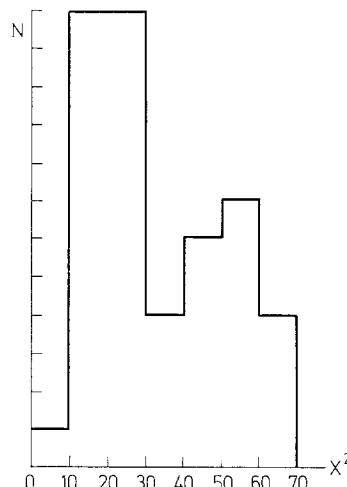


Abb. 2.  $\chi^2$ -Verteilung der Werte unter 67,24

(34,2). Dies mag einerseits seine Ursachen in einem Geschlechtsdimorphismus haben. So liegt z. B. der  $\alpha_2$ -M-Globulin-Spiegel beim weiblichen Individuum höher [7]. Auch sind bei Frauen hormonelle Beeinflussungen beschrieben worden [16]. Andererseits könnte die unterschiedliche Verteilung aber auch ein Hinweis auf den Vererbungsmodus der individuellen Konzentration der Serumproteinfraktionen beinhalten.

Da unsere Stichprobe keine echten Familien enthält, außerdem relativ klein ist, soll dieser Fragenkomplex erst an anderer Stelle an Hand von Familienmaterial diskutiert werden.

Sollte sich eine genetische Hypothese dann bestätigen, so wäre mit dieser Methode bei etwa 50% der Fälle strittiger Vaterschaft ein positiver Beweis für die Vaterschaft oder Nichtvaterschaft zu erwarten.

### Literatur

1. Allansmith, M., McClellan, B., Butterworth, M.: Stability of human immunoglobulin levels. Clin. chim. Acta **21**, 404 (1967).
2. Azen, E. A., Smithies, O., Hiller, O.: High-voltage starch-gel electrophoresis in the study of post-albumin proteins and C'3 ( $\beta_1c$ -globulin) polymorphism. Biochem. genet. **3**, 215 (1969).
3. Becker, W., Schwick, H. G., Störkko, K.: Immunologische Bestimmung von Proteinen mit niedriger Normalkonzentration im menschlichen Serum. Clin. Chem. **15**, 649 (1969).
4. Cleve, H.: Genetische Untersuchungen über den Mangel an  $\beta_2$ -Glycoprotein I im Human-serum. Humangenetik **5**, 294 (1968).
5. Gußmann, St.: Wassergekühltes Hochspannungsstärkegelektrophoresegerät. Ärztl. Lab. **18**, 44 (1972).
6. Gußmann, St., Werk, W.: In Vorbereitung.
7. James, K., Johnson, G., Fudenberg, H. H.: The quantitative estimation of  $\alpha_2$ -makroglobulin in normal, pathological and cord sera. Clin. chim. Acta **14**, 207 (1966).
8. Haupt, H., Schwick, H. G., Störkko, K.: Über einen erblichen  $\beta_2$ -Glycoprotein I-Mangel. Humangenetik **5**, 291 (1969).
9. Koppe, A. L., Walter, H., Chopra, V. P., Bajazadeh, M.: Untersuchungen zur Genetik und Populationsgenetik des  $\beta_2$ -Glycoprotein I-Polymorphismus. Humangenetik **9**, 164 (1970).
10. Lopez, V., Oetliker, O., Colombo, J. P., Bütler, R.: Ein Fall von familiärem  $\alpha_1$ -Antitrypsinmangel. Helv. paediat. Acta **19**, 296 (1964).
11. Mondorf, W., Kollmar, M.: Das quantitative Verhalten von IgG, IgA und IgM sowie des Transferrins, Coeruloplasmins,  $\alpha_1$ -Antitrypsins und des  $\beta_1A$ -Globulins bei Normalpersonen im Verlaufe von 5 Monaten. Klin. Wschr. **47**, 1055 (1969).
12. Schultze, H. E., Schwick, G.: Quantitative immunologische Bestimmung der Plasmaproteine. Behringwerke-Mitt. **35**, 57 (1958).
13. Schultze, H. E., Schwick, G.: Quantitative immunologische Bestimmung von Plasmaproteinen. Clin. chim. Acta **4**, 15 (1958).
14. Störkko, K.: Normal values for 23 different human plasma proteins determined by singel radial immunodiffusion. Blut **16**, 200 (1968).
15. Talamo, R. C., Allen, J. D., Kahan, M. G., Austen, K. F.: Erblicher  $\alpha_1$ -Antitrypsin-Mangel. New Engl. J. Med. **278**, 345 (1968).
16. Wilbert, L., Hillmer, T., Hunstein, W., Reisert, P., Kaboth, U., Creutzfeld, W.: Einfluß oraler Ovulationshemmer auf klinisch-chemische Normalwerte. Dtsch. med. Wschr. **94**, 844 (1969).

Dr. Steffen Gußmann  
 Institut für Anthropologie und Humangenetik  
 der Universität  
 D-8000 München 2, Richard Wagner-Straße 10  
 Bundesrepublik Deutschland