

Polymorphismus der menschlichen Erythrozyten-Esterase D*

Phänotypenverteilung und Genfrequenzen in Norddeutschland (Schleswig-Holstein);
Beschreibung einer Familie mit Es D 4

O. Grüner und E. Simeoni¹

Abteilung Rechtsmedizin I (Allg. gerichtl. Medizin) der Christian-Albrechts-Universität Kiel,
Hospitalstraße 17/19, D-2300 Kiel, Bundesrepublik Deutschland

The Polymorphism of Human Erythrocytic Esterase D

Phenotype Distribution and Gene Frequency in Northern Germany (Schleswig-Holstein); Description of an Es D 4 Family

Summary. A good correlation between the actual phenotype distribution of esterase D and the expected distribution was found in the analysis of a random sample of 2028 unrelated persons, 54 umbilical cord blood samples, 406 mother/child comparisons, 24 family investigations, one fraternal and 32 identical twin investigations. The assumed gene frequencies in Northern Germany were calculated for Es D¹ = 0.8935 and Es D² = 0.1065 for an aggregate sampling. Gene defects were not observed, and one family exhibited the variant Es D⁴ in the father (Es D 4–1) and son (Es D 4–2). Likewise, these phenotypes distinctly distinguish themselves by electrofocusing from the phenotypes Es D 1, Es D 2–1, and Es D 2.

Key words: Es D phenotypes, gene frequencies, Es D⁴ variant in electrofocusing.

Zusammenfassung. Bei der Untersuchung einer Stichprobe von n = 2028 unverwandten Personen, Mutter-Kind-Vergleichen (n = 406), Familienuntersuchungen (n = 24), Zwillingsuntersuchungen (33 Zwillingspaare, davon 32 eineiige) und der Untersuchung von Nabelschnurblutproben (n = 54) fanden sich gute Übereinstimmungen der Phänotypenverteilung der Esterase D mit den Erwartungswerten. Bei einer fiktiven Gesamtstichprobe aus dem norddeutschen Raum errechnen sich als Genfrequenzen für Es D¹ = 0,8935 und für Es D² = 0,1065. Defekttypen wurden nicht beobachtet, jedoch in einer Familie die Variante Es D⁴ (Vater: Es D 4–1; Sohn Es D 4–2). Die entsprechenden Phänotypen unterscheiden sich

* Herrn Prof. Dr. G. Dotzauer zum 65. Geburtstag gewidmet

¹ Mit technischer Assistenz von R. Lotzkat und E. Ehlers

auch bei der Elektrofocussierung deutlich von den Phänotypen Es D 1, Es D 2-1 und Es D 2.

Schlüsselwörter: Es D-Phänotypen, Genfrequenzen, Es D⁴, Elektrofocussierung

Zum Nachweis des Esterase D-Polymorphismus werden seit Hopkinson u. a. (1973) die Stärkegelelektrophorese, die Agarosegel-Hochspannungselektrophorese (Kühnl u. a., 1974; Bender u. a., 1974) und die Acetatfolienelektrophorese mit gleichguten Darstellungsmöglichkeiten (Martin und Ott, 1975) angewandt. Dagegen war das Ergebnis bei der Elektrofocussierung bisher unbefriedigend (Kühnl, 1977).

Methodik

Bei den im folgenden mitgeteilten Untersuchungsergebnissen wandten wir die Agarose-Hochspannungselektrophorese (vgl. Kühnl, Nowicki, u. Spielmann, 1974; Martin und Ott, 1975) und das Cellogel-Folien-Verfahren (Zelluloseacetatgel) an (vgl. Benkmann und Goedde, 1974). Daneben zogen wir die Elektrofocussierung zur Darstellung der Es D-Typen heran.

Die Isoelektrofocussierung wurde folgendermaßen durchgeführt: pH-Bereich 3,5–9,5; Ampholine-Fertigplatten (PAG-plate); Gesamtfocussierung 1 1/2–2 Stunden; Lauf über die schmale Seite des Gels, Probenauftrag ca. 3 cm von der Kathode mit 15 µl–20 µl stromafreiem Hämolystat auf 5 x 10 mm Filterpapier (Whatmann 3 MM); Entfernung der Plättchen nach 50 Min.; danach weitere Fokussierung über 40–70 Min.; Anfärbung wie beim Cellogelfolienverfahren.

Untersuchungsgut

Untersucht wurden

- a) unverwandte Personen (n = 2028),
- b) Mutter-Kind-Paare (n = 406),
- c) Familien (n = 24 mit 51 Kindern),
- d) Nabelschnurblute (n = 54),
- e) Zwillingspaare (n = 33, davon 32 eineiige Zwillingspaare).
- f) Blutproben einer Familie mit der Variante Es D⁴.

Ergebnisse

- a) *Unverwandte Personen:* Tabelle 1 zeigt die bei unserer Stichprobe gefundene Verteilung der drei Phänotypen mit den Erwartungswerten sowie die errechneten Genfrequenzen.
- b) *Mutter-Kind-Paare:* Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse und die Erwartungswerte.
- c) *Familienuntersuchungen:* s. Tabelle 3.
- d) *Nabelschnurblute:* Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse und die Erwartungswerte.
- e) *Zwillinguntersuchungen:* Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse und Erwartungswerte von 33 Zwillingen, wobei es sich um Geschwister von 32 eineiigen Zwillingspaaren und einem zweieiigen Zwillingspaar handelt.
- f) *Bei den Routineuntersuchungen* stießen wir auf einen Mann (M. L.) mit dem Typ Es D 4-1; der Stammbaum ergibt sich aus Abb. 1.

Diskussion

Bei unseren Untersuchungen fanden wir die Erfahrungen von Martin und Ott (1975) sowie Kühnl (1977) bestätigt, wonach bei der Darstellung der Es D-Phänotypen mit der Agarosegel-Hochspannungselektrophorese und der Acetatfolienelektrophorese praktisch *gleich gute Ergebnisse* zu erzielen sind, die Elektrofocussierung aber keine Vorteile bringt und die dabei erkennbaren zahlreichen Nebenbanden das Bild eher etwas verschleiern.

Tabelle 1. Phänotypenverteilung und Genfrequenzen
(n = 2028)^a

Phänotyp	Beobachtet		Erwartet		χ^2
	n	%	n	%	
Es D 1	1631	80,4	1629,93	80,37	0,0007
Es D 2-1	375	18,5	376,35	18,56	0,0048
Es D 2	22	1,1	21,72	1,07	0,0036
Gesamt	2028	100,0	2028,00	100,00	0,0091
Es D ¹ = 0,8965 $\hat{\chi}^2 = 0,0091$					
Es D ² = 0,1035 für $\hat{\chi}^2 < 3,84$ ist P > 0,05 (1 df)					
^a Die Variante Es D 4-1 wurde nicht in die Tabelle aufgenommen					

Tabelle 2. Mutter-Kind-Vergleiche (n = 406)

Mutter	Kinder						Gesamt (%)
	1	(%)	2-1	(%)	2	(%)	
1	277	(68,22)	44	(10,84)	/		321 (79,06)
2-1	38	(9,36)	43	(10,59)	3	(0,74)	84 (20,69)
2	/		1	(0,25)	0		1 (0,25)
Beobachtet	315	(77,58)	88	(21,68)	3	(0,74)	406 (100,00)
Erwartet	326,31	(80,37)	75,34	(18,56)	4,35	(1,07)	406 (100,00)
$\hat{\chi}^2 = 2,938$							
für $\hat{\chi}^2 < 3,84$ ist P > 0,05 (1 df)							

Tabelle 3. Familienuntersuchungen (n = 24)

Eltern	Kinder					Gesamt
	n	1	2-1	2		
1 x 1	14	27	—	—		27
1 x 2-1	9	10	11	—		21
1 x 2	—	—	—	—		—
2-1 x 2-1	1	1	1	1		3
2-1 x 2	—	—	—	—		—
2 x 2	—	—	—	—		—
Beobachtet	24	38	(74,5%) 12 (23,5%)	1 (2,0%)		51 (100%)
Erwartet	24	40,99	(80,4%) 9,46 (18,5%)	0,55 (1,1%)		51 (100%)
$\hat{\chi}^2 = 1,27$						
für $\hat{\chi}^2 < 3,84$ ist P > 0,05 (1 df)						

Unsere Phänotypenverteilung und die Genfrequenzen zeigen eine sehr gute Übereinstimmung mit der bisher bei vier Untersuchungen aus dem norddeutschen Raum gefundenen Phänotypenverteilung und den aus einer gemeinsamen Stichprobe dieser Untersuchungen geschätzten Genhäufigkeiten. Diese betragen nach Köhler (1977) für Es D¹: 0,8914 (nach eigenen Untersuchungen: 0,8965), für Es D²: 0,1086 (nach eigenen Untersuchungen: 0,1035).

Tabelle 4. Nabelschnurblute (n = 54)

Phänotyp	Beobachtet		Erwartet		χ^2
	n	%	n	%	
Es D 1	43	(79,63)	43,40	(80,37)	0,0037
Es D 2-1	10	(18,52)	10,02	(18,56)	0,00004
Es D 2	1	(1,85)	0,58	(1,07)	0,3041
Gesamt	54	(100,00)	54,00	(100,00)	0,30784

$$\hat{\chi}^2 = 0,30784$$

für $\hat{\chi}^2 < 3,84$ ist $P > 0,05$ (1 df)

Tabelle 5. Zwillinge (n = 33)

Phänotyp	Beobachtet		Erwartet		χ^2
	n	%	n	%	
Es D 1	27	(81,82)	26,522	(80,37)	0,0086
Es D 2-1	6	(18,18)	6,124	(18,56)	0,0025
Es D 2	0	(0,00)	0,354	(1,07)	0,354
Gesamt	33	(100,00)	33,000	(100,00)	0,3651

$$\hat{\chi}^2 = 0,3651$$

für $\hat{\chi}^2 < 3,84$ ist $P > 0,05$ (1 df)

Tabelle 6. Phänotypenverteilung bei 5 Untersuchungen im norddeutschen Raum

Autoren	1		2-1		2		Gesamt
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Eigene Werte	1631	(80,4)	375	(18,5)	22	(1,1)	2028
Benkmann u. Goedde	318	(77,9)	84	(20,6)	6	(1,5)	408
Heide	885	(81,4)	194	(17,8)	9	(0,8)	1088
Köhler	875	(78,7)	223	(20,1)	13	(1,2)	1111
Martin u. Ott	428	(78,5)	107	(19,6)	10	(1,8)	545
Gesamt	4137	(79,86)	983	(18,98)	60	(1,16)	5180

$$Es D^1 = 0,8935$$

$$Es D^2 = 0,1065$$

Tabelle 7. Phänotypen einer fiktiven Gesamtstichprobe aus der norddeutschen Bevölkerung

Phänotyp	Beobachtet		Erwartet		χ^2
	n	(%)	n	(%)	
Es D 1	4137	(79,86)	4135,41	(79,84)	0,0006
Es D 2-1	983	(18,98)	985,84	(19,03)	0,0082
Es D 2	60	(1,16)	58,75	(1,13)	0,0266
Gesamt	5180	(100,00)	5180,00	(100,00)	0,0354

$$\hat{\chi}^2 = 0,0354$$

für $\hat{\chi}^2 < 3,84$ ist $P > 0,05$ (1 df)

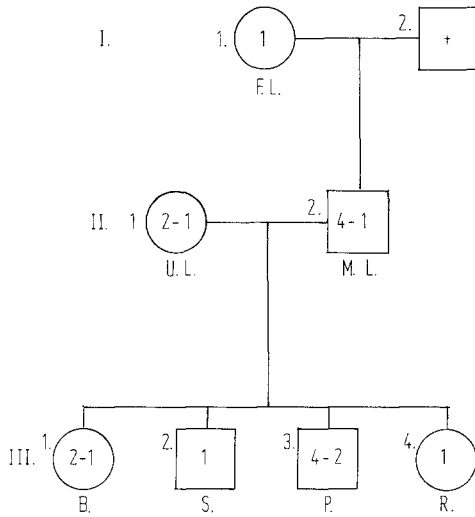


Abb. 1. Es D-Polymorphismus: Familie L

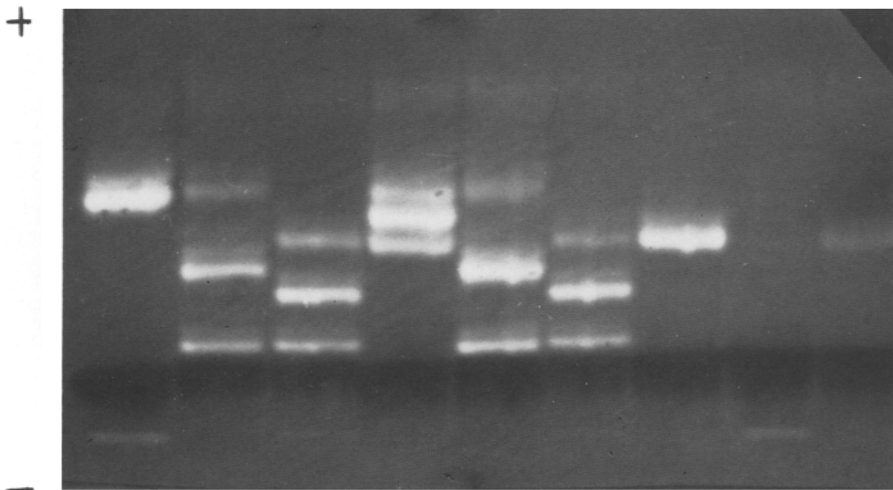


Abb. 2. Es D in der Cellogelelektrophorese

Mit den eigenen (2028) Untersuchungen erhöht sich die Zahl der bei insgesamt fünf Stichproben aus dem norddeutschen Raum untersuchten Personen auf 5180. In Tabelle 6 werden die Ergebnisse der vier aus dem norddeutschen Raum stammenden Arbeiten den Resultaten der eigenen Stichprobe gegenübergestellt. Eine Überprüfung der Werte spricht dafür, daß die einzelnen Stichproben der gleichen Grundgesamtheit entnommen worden sind, und erlaubt die Zusammenfassung der Werte und eine Schätzung der Genfrequenzen für die gemeinsame Stichprobe. Sie betragen für Es D¹ = 0,8935, für Es D² = 0,1065. In Tabelle 7 finden sich (neben den beobachteten Werten) die hieraus ermittelten Erwartungswerte. Es zeigt sich eine sehr gute Überein-

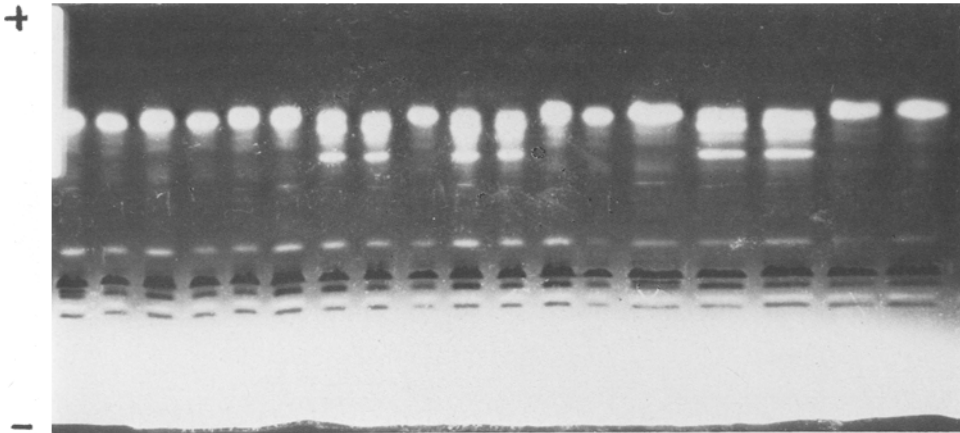


Abb. 3. Es D in der Elektrofokussierung

Es D-Typen von links nach rechts:

1, 2, 9, 12, 13 u. 14 = 1, 3 u. 4 = 2-1, 5 u. 6 = 2, 7, 10 u. 15 = 4-1, 8,
11 u. 16 = 4-2

stimmung der Gesamtstichprobe mit den Erwartungswerten. Zugleich bestätigen unsere Ergebnisse die Feststellungen Köhlers (1977), der zwischen Merkmalsverteilungen der norddeutschen Stichproben und denen der weißhäutigen Europäer keine signifikanten Differenzen feststellen konnte. In unserer Stichprobe fanden wir keine Defekttypen, wohl aber einmal den Phänotyp 4-1, der Anlaß zu einer Familienuntersuchung (s. u.) war. Im übrigen ließ sich folgendes feststellen: Bei den Mutter-Kind-Vergleichen (406) folgen die Ergebnisse der erwarteten Häufigkeitsverteilung; in keinem Fall wurde eine Mutter-Kind-Unverträglichkeit im Es D-System festgestellt. Das gleiche gilt für die Familienuntersuchungen ($n = 24$). Auch hier entsprachen die bei den 51 Kindern beobachteten Phänotypen den Erwartungswerten (die Familie mit der Variante Es D⁴ wurde in die Tabelle nicht mit aufgenommen).

Auch bei den Untersuchungsergebnissen von Nabelschnurblutproben findet sich eine gute Übereinstimmung von festgestellter und erwarteter Verteilung, was zeigt, daß beim Neugeborenen der Esterase D-Polymorphismus voll ausgeprägt ist. Diese Feststellungen stimmen mit den Ergebnissen von Hopkinson u. a. (1973) überein, nach denen bereits bei der Geburt alle Esterase D-Phänotypen vorhanden sind, wie sich bei Untersuchungen von Placentaextrakten und Nabelschnurbluten ergab. Nach Hopkinson u. a. (1973) soll bereits in einem frühen Entwicklungsstadium der Leber im fetalen Lebergewebe der Esterase D-Polymorphismus nachweisbar sein.

Auch bei den Zwillingsuntersuchungen ließ sich keine Abweichung von der Erbregel feststellen. Bei 32 eineiigen Zwillingspaaren und einem zweieiigen Zwillingspaar (das im Es D-System Übereinstimmung zeigte) ließ sich 27 mal der Typ Es D 1 und 6 mal der Typ Es D 2-1 feststellen, was mit der Erwartung übereinstimmt (vgl. Tab. 5).

Von besonderem Interesse ist die Familie L. (vgl. Abb. 1). Hier besitzt M. L. (II,2) den Typ Es D 4-1. Der Nachweis gelang leicht mit Hilfe der üblichen Methoden

(vgl. Abb. 2), und auch bei der Elektrofocussierung war der Typ als Variante erkennbar (vgl. Abb. 3).²

Leider ist der Vater des Variantenträgers (I,2), von dem M.L. die Anlage geerbt haben muß, verstorben, aber sein Sohn P. (III,3) besitzt ebenfalls die Es D⁴-Variante (4-2). Damit liegen ähnliche Verhältnisse wie bei dem von Berg u. a. (1976) mitgeteilten Fall vor, bei dem der Vater ebenfalls den Phänotyp Es D 4-1 und ein Kind (Tochter) Es D 4-2 besitzt. Es ist deshalb davon auszugehen, daß das „neue“ Allel (Es D⁴) nicht durch eine technische Variation vorgetäuscht wurde (Köhler, 1977), sondern daß die Annahme eines weiteren Allels (Es D⁴) neben dem Allel Es D³ offenbar berechtigt ist.

Literatur

- Bender, K., Frank, R.: Esterase D-Polymorphismus: Darstellung in der Hochspannungselektrophorese und Mitteilung von Allelhäufigkeiten. *Hum Genet* 23, 315 (1974)
- Benkmann, H.-G., Goedde, H. W.: Esterase D-Polymorphism: Gene Frequencies and Family Data. *Hum Genet* 24, 325 (1974)
- Berg, K., Schwarzfischer, F., Wischerath, H.: Esterase D-Polymorphism: Description of the „New“ Allel Es D⁴. *Hum Genet* 32, 81 (1976)
- Heide, K.-G.: Esterase D-Polymorphismus: Phänotypenverteilung und Genfrequenzen in Norddeutschland (Schleswig-Holstein). *Z Rechtsmed* 77, 295 (1976)
- Hopkinson, D. A., Mestriner, M. A., Cortner, J., Harris, H.: Esterase D: a new human polymorphism. *Ann Hum Genet* 37, 119 (1973)
- Köhler, H.-W.: Genetische Untersuchungen über die Erythrozyten Esterase D. Diss. Kiel 1977
- Kühnl, P.: Elektrofocussierung in der Praxis der forensischen Hämatogenetik. Kurs am 27./28.9.1977, Hamburg (7. Internat. Kongr. d. Ges. f. Forens. Blutgruppenkunde)
- Kühnl, P., Nowicki, L., Spielmann, W.: Untersuchungen zum Polymorphismus der intraerythrozytären Esterase D (EsD) mittels Hochspannungselektrophorese auf Agarosegel. *Z Rechtsmed* 75, 179 (1974)
- Martin, W., Ott, A.: Polymorphismus der menschlichen Erythrozyten-Esterase D. Phänotypenverteilung und Genfrequenzen in Berlin (West). *Blut* 30, 299 (1975)

Eingegangen am 12. April 1978

² Herrn Prof. Dr. Schwarzfischer danken wir für die Überprüfung unserer Befunde