

(Aus der Erbbiologischen Abteilung des Gesundheitsamtes in Hamburg.)

Zur Kenntnis der erblichen Blutstrukturen.

Von
Dr. Alfred Lauer.

Mit 3 Textabbildungen.

Die Lehre von den Blutstrukturen des Menschen erscheint in ihrer schematischen Grundlage — der Vierheit der Agglutinationsfälle — als ein durch zahlreiche und sorgfältige Beobachtungen unanfechtbar gesichertes biologisches Gesetz. Der gesamte Forschungszweig wäre aber zum Absterben verurteilt, wenn nicht innerhalb dieses Rahmens Fortschritte möglich erschienen, die auf eine Verfeinerung und Spezialisierung dieser Grundtatsachen abzielten, womöglich aber gar erlauben würden, den Bereich der Erscheinungen weiter zu spannen als bisher. Daher richtet sich naturgemäß die Aufmerksamkeit der Forschung auf jeden Einzelfall, der Abweichungen vom Schema darbietet und zu neuen Grundlegungen Material herbeizuschaffen geeignet sein könnte.

Im vorliegenden Falle handelt es sich um eine Erweiterung oder Abweichung innerhalb der Blutgruppe AB . Das in Rede stehende Blut Hedwig H. gehört zur Gruppe AB und enthält in seinem Serum das Agglutinin α . Über die eingehende Untersuchung dieses Blutes soll im folgenden berichtet werden. Kurz nach Zusammenstellung der Ergebnisse fand ich ein zweites Blut gleicher Art (Frau Zand., Mutter eines auf Unterhalt klagenden Kindes). Die Erythrocyten reagierten in beiden Fällen positiv auf eine größere Anzahl von Seris α und β sowie $\alpha\beta$, negativ auf vier Sera der Gruppe AB und auf die eigenen Sera. Suspension der Erythrocyten in Lecithinsol (nach *Lattes*) blieb ohne jeden Einfluß auf das Zustandekommen der Agglutinationen. Die Sera agglutinierten *nur* Erythrocyten der Gruppen A und AB , keine der Gruppen B und O . Die Reaktionen wurden bei Zimmertemperatur abgelesen, sie erfolgten aber ebenso bei 37° .

Zur Technik.

Die Untersuchung des Blutes von Hedwig H. wurde in verschiedener Hinsicht über den Rahmen der gewöhnlichen Proben hinaus erweitert. Zunächst zeigte es sich, daß 14 Tage alte Erythrocyten schwächer auf Sera α reagierten als frische. Die Abnahme der Empfindlichkeit machte

sich am ehesten bei Anwendung der Reagenzglas- methode (Technik nach *Schiff*¹) bemerkbar, weil sie bei besonders schwach ausgeprägtem Agglutinogen leicht in das \pm Gebiet führt, wo man dann gelegentlich im Zweifel sein kann, ob man eine schwach positive oder eine negative Reaktion vor sich hat. Ich habe mehrere solche Fälle beobachtet. Man pflegt sich dann so zu helfen, daß man die Agglutinine des zugehörigen Serums bestimmt, denn dies Verfahren gilt als gleichberechtigte Umkehrung des gewöhnlichen: „Man kann entweder die Blutkörperchen mit Hilfe zweier Sera Anti-*A* und Anti-*B* prüfen, oder aber umgekehrt das unbekanntes Serum auf bekannte Blutkörperchen *A* und *B* einwirken lassen“ (*Schiff*¹).

Dieses Verfahren mag gelegentlich zu Fehlschlüssen verleiten, wie folgender Fall lehrt: Von 2 Laborantinnen, die beide auf die Reagenzglas- methode eingearbeitet waren, denen man aber nicht gesagt hatte, daß es sich bei dem ihnen vorgelegten frischen Blut Hedwig H. um eine Besonderheit handelte, fand die eine zu ihrer Verwunderung richtig die einzelnen Komponenten *A*, *B* und α , die andere bestimmte das Blut zu *B* α . Ein solcher Irrtum war, psychologisch betrachtet, beinahe entschuldbar: Die Untersucherin fand eine starke Reaktion auf *B* und ein kräftiges α , also, wird sie geschlossen haben, ist die schwächere Reaktion auf *A* nur eine scheinbare gewesen, sie hat vielleicht doch nicht kräftig genug an das Gläschen geklopft. Durch wiederholtes Klopfen kann man dann schließlich selbst eine mittelstark positive Reaktion negativ machen. Daß bei dieser Untersuchung wie gewöhnlich (wir haben von Januar bis Mitte November dieses Jahres 65 Unterhaltsprozesse für die Hamburger Gerichte gutachtlich bearbeitet) das System der Kontrollen, so wie es in der Technik der Blutgruppenuntersuchung von *Schiff* dargestellt ist, zur Anwendung gekommen war und einwandfrei funktioniert hatte, braucht kaum gesagt zu werden.

Die erwähnte Zone der \pm Reaktion läßt sich aber durch eine andere Art der Technik unterteilen. Es handelt sich um ein in bestimmter Weise abgeändertes Objektträgerverfahren mit teils makro- teils mikroskopischer Ablesung, wobei man außerdem den Vorteil hat, daß man den Vorgang der Agglutination — zur Anwendung kommt eine 1,5proz. Aufschwemmung der Erythrocyten in physiologischer Kochsalzlösung — zeitlich verfolgen kann, also nicht lediglich auf die Beurteilung eines Endzustandes angewiesen ist. Man erhält nach diesem Objektträger- verfahren bei Anwendung stetig steigender Verdünnungen etwa fortschreitend nach Potenzen von $1/2$, typische Bilder einer stetig schwächer werdenden charakteristischen Verklumpung, bis der nächste Schritt in der Verdünnungsreihe eine absolut negative Reaktion ergibt. Die Reagenzglas- methode — 2 Min. zentrifugieren bei 1500 Umdrehungen — kann dann bereits seit zwei oder mehr zurückliegenden Stufen \pm an-

gezeigt haben. Auf dieser Auflösung des \pm Gebietes beruht die größere Empfindlichkeit meiner Objektträgermethode. Sie empfiehlt sich daher als Ergänzungsmethode zu dem *Schiffschen* Verfahren. Man wird sie jedoch nicht allgemeinhin anwenden können, weil verschiedene Fehlerquellen (Tropfengröße, Verdunstung) erst durch lange und regelmäßige Beschäftigung mit ihr vermieden werden können. Wo jedoch regelmäßig nach der *Schiffschen* Methode gearbeitet wird, und gleichzeitig der Wunsch besteht, sich eine feinere Unterteilung des \pm Gebietes zu schaffen, wird man vielleicht von selbst daneben zu einem Objektträgerverfahren greifen, welches dann, mit Recht, individuelles Gepräge erhält. Ich verzichte daher auf eine genaue Beschreibung meiner Methode und fühle mich verpflichtet, darauf hinzuweisen, daß in erster Linie nach der *Schiffschen* Methodik gearbeitet werden sollte, vor allem wegen ihrer Übersichtlichkeit in bezug auf die Kontrollen und wegen der von vornherein garantierten Gleichmäßigkeit ihrer Bedingungen.

Die Blutgruppen der Familie H.

Von dem Blute Hedwig H. wurden auf Grund des bei der ersten Untersuchung erhobenen auffälligen Befundes, sowie um die nachfolgenden etwas zeitraubenden Arbeiten immer mit frischen Erythrocyten anstellen zu können, im Laufe von 3 Monaten in ziemlich gleichen Zwischenräumen weitere 3 Blutproben untersucht. Die Befunde sind immer die gleichen geblieben. Hedwig H. ist vor einem halben Jahre wegen einer Blinddarmreizung operiert worden, zur Zeit der Entnahme der 3 letzten Blutproben hatte sie ihre Arbeit als Kontoristin wieder aufgenommen. Die Untersuchung wurde außerdem auf Eltern und Geschwister ausgedehnt. Die in Abb. 1 dargestellte Stammtafel zeigt die gefundenen phänotypischen Merkmale in ihrer Verteilung auf die einzelnen Familienmitglieder.

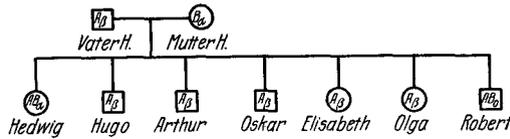


Abb. 1.

Bezeichnen wir nach der Weise der amerikanischen Erbforscher mit E_A oder E_B das Vorhandensein jenes Gens, welches die phänotypische Eigenschaft A oder B bedingt, ferner mit e das genisch bedingte Fehlen dieser Eigenschaften und schreiben wir für eine homozygot zusammengesetzte A -Gruppe $\frac{E_A}{E_A}$, für eine heterozygot zusammengesetzte $\frac{E_A}{e}$, so können wir eine Ehe $\frac{E_A}{e} \times \frac{E_B}{e}$ mit ihren möglichen Nachkommen

wie folgt charakterisieren: $\frac{E_A}{e} \times \frac{E_B}{e} = \frac{E_A}{e} : \frac{E_B}{e} : \frac{E_A}{E_B} : \frac{e}{e}$. In unserem Falle finden wir statt dieser theoretisch möglichen und im gleichen Verhältnisse zu erwartenden 4 Klassen deren nur 2, nämlich $\frac{E_A}{E_B}$ und $\frac{E_A}{e}$. Es fehlen jene beiden Klassen, in welchen B oder e allein vorkommt, d. h. wir haben es offenbar mit einem homozygoten A des Vaters zu tun, entsprechend dem Verhältnis $\frac{E_A}{E_A} \times \frac{E_B}{e} = \frac{E_A}{E_B} : \frac{E_A}{e}$.

Die Empfindlichkeit der A -Faktoren der Familie H. und im Vergleich dazu jene von gut empfindlichen Vergleichserythrocyten A — als solche dienen meine eigenen Erythrocyten (Er. L.) — wird durch Abb. 2 veranschaulicht.

Die ausgezogene Kurve stellt die Wirkung eines starken Testserums α (Nr. 390), die gestrichelte jene des Serums Hedwig bei den auf der Ordinate angegebenen Stufen der Verdünnungsreihen derselben gegen die in der Abscisse bezeichneten Erythrocyten dar. Sie geben an, bis zu welchen Verdünnungen diese Sera noch eine Agglutination der verschiedenen Erythrocyten bewirken. Die relativen Verhältnisse zwischen beiden Kurven bleiben im Prinzip bestehen, wenn die Einteilung der Ordinate anstatt, wie bisher, nach Stufen einer geometrischen Reihe nach den tatsächlichen Verdünnungen vorgenommen wird. Die Kurve zeigt, daß

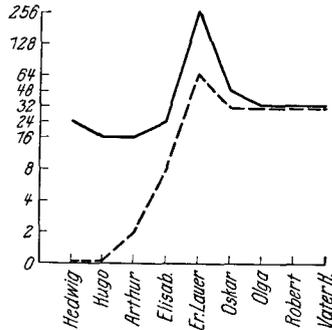


Abb. 2.

die Vergleichserythrocyten bei weitem die empfindlichsten sind. Die verschiedenen Blute der Familie H. sondern sich in 2 Klassen, von denen die eine (Klasse 1: Hedwig, Hugo, Arthur, Elisabeth) einen niedrigen Titer (0—8 in bezug auf Serum Hedwig), die andere (Klasse 2: Oskar, Olga, Robert, Vater H.) einen mittleren Titer (32 in bezug auf Serum Hedwig) besitzt. Die Vermutung liegt nahe, daß wir hierin einen Ausdruck dafür haben, daß das Agglutinogen A des Vaters aus zwei erblich verschiedenen Einzelagglutinogenen A homocytot zusammengesetzt ist, so daß 4 Kinder (diejenigen der Klasse 1) das Agglutinogen mit dem niedrigen Titer, die anderen Kinder jenes mit dem mittleren Titer geerbt haben. Ein weiterer Unterschied zwischen beiden Klassen besteht darin, daß Klasse I von dem starken Testserum Nr. 390, verglichen mit dem Serum Hedwig, in relativ sehr hohen Verdünnungen agglutiniert wird, während sich die Blute der Klasse II umgekehrt verhalten — gleiche Wirkung des schwachen wie des starken Serums —;

die Mitte zwischen beiden — hinsichtlich des vergleichsweisen Verhaltens einem starken und einem schwachen Testserum gegenüber — hält das Agglutinogen *A* der Vergleichserythrocyten. So könnte es scheinen, als ob die auf Grund der Empfindlichkeit ihrer *A*-Faktoren unterscheidbaren beiden Klassen der Blute H. im Grunde zwei verschiedenen Biotypen von *A*-Faktoren angehörten. Diese Frage läßt sich auf Grund dieses einen vorliegenden Versuches nicht entscheiden; sie wird weiter bearbeitet werden. In der Literatur liegt eine Kurve von *Schiff*¹ (Tab. 5) vor, die auf Grund ihrer Rechtsasymmetrie ähnlich gedeutet werden könnte (3 oder mehr Biotypen); sie wurde angefertigt, um zu zeigen, daß verschiedene Erythrocyten *A* verschiedene Empfindlichkeit gegenüber ein und demselben Serum $\alpha\beta$ haben. *Schiffs* (l. c.) Tab. 4, welche den Titer von 100 Seris $\alpha\beta$ gegenüber ein und demselben *A*-Blute demonstriert, entspricht dagegen einer reinen Zufallskurve.

Mit der geringen Empfindlichkeit des Agglutinogens *A* von Hedwig geht, wie der folgende Versuch zeigt, seine geringe Bindungsfähigkeit für zugesetztes Agglutinin parallel.

Tabelle 1.

Verdünnungen des Serums Karp.		$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{120}$
Er. L.	normal	+	+	+	+	+	--
	behandelt	+	+	+	--	--	--
Er. Oskar H.	normal	+	+	+	+	--	--
	behandelt	+	+	--	--	--	--

Es wurde mit den Erythrocyten von Hedwig H. und einem Testserum α (Karp.) von durchschnittlichem Titer ($\frac{1}{128}$ in bezug auf Er. L.) der Agglutinin-Bindungsversuch nach der Methodik von *Schiff* und mit den dort üblichen Mengenverhältnissen zwischen Erythrocyten und Serum für die Dauer von $1\frac{1}{2}$ Stunden im Eisschrank angesetzt. Das abgehobene, in dieser Weise vorbehandelte Serum wurde, nachdem es einige Zeit in Zimmertemperatur gestanden hatte, gegen Vergleichserythrocyten *A* (Er. L.) geprüft. Die Reaktion desselben mit den Er. L. fiel zunächst positiv aus. Erst durch die Auswertung ergab sich, daß das behandelte Serum hinsichtlich seiner agglutinierenden Kraft eine beträchtliche Abschwächung erfahren hatte. Die entsprechende Abschwächung ergab sich gegenüber den Erythrocyten Oskar H., dessen Blut in diesen Tagen frisch zur Verfügung gestanden hatte.

Ehe wir die Besprechung des Faktors *A* von Hedwig verlassen, mag auf das beigegebene Mikrophotogramm (Abb. 3) hingewiesen werden: es stellt die Agglutination der Erythrocyten Hedwig durch das auf $\frac{1}{16}$ verdünnte Testserum α Nr. 390 bei der Vergrößerung 10×1 dar, nachdem der Inhalt eines nach der *Schiffschen* Methode angesetzten

Reagenzgläschens zum Zwecke der photographischen Aufnahme auf einem Objektträger ausgeschüttet worden war. Es muß dazu bemerkt werden, daß einzelne größere Flocken als die im Bilde wiedergegebenen, nicht auf die Platte gebracht worden sind, weil sie das Gesichtsfeld etwa zur Hälfte eingenommen hätten und auf sie nicht scharf eingestellt werden konnte.

Das Agglutinin α .

Das Serum Hedwig H. wurde im ganzen gegen 5 *AB*-Blute und 22 *A*-Blute geprüft, von denen alle, mit Ausnahme von 2 *A*-Bluten (Erythrocyten Oskar H. und Nr. 945) agglutiniert wurden. Der Titer des Serums von Hedwig beträgt gegenüber Vergleichserythrocyten (Er. L.) $\frac{1}{64}$, er entspricht damit ungefähr dem durchschnittlichen Wert aller von mir ausgewerteten

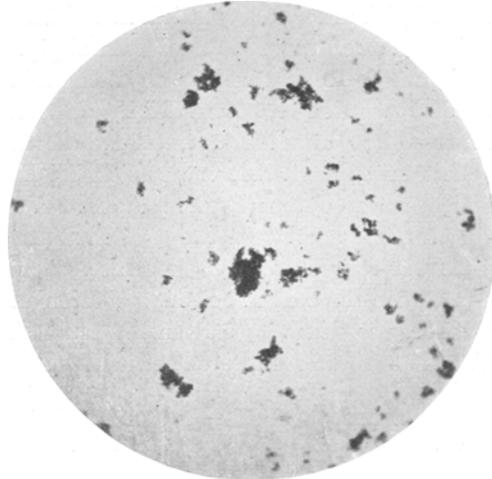


Abb. 3. Mikrophotographische Aufnahme der Agglutination der Erythrocyten von Hedwig H. durch das Testserum α Nr. 390 bei einer Verdünnung von $\frac{1}{16}$. Zeiß AA, Okular 2, Vergrößerung 10×1 .

Sera α , deren mittlerer Titer etwa in der Mitte zwischen $\frac{1}{64}$ und $\frac{1}{128}$ liegen dürfte. In Tabelle 2 sind einige Sera α in ihrer vergleichweisen Wirkung auf Er. L. und Erythrocyten Hedwig H. dargestellt.

Tabelle 2.

Sera α	Er. L.	Er. Hedwig
Hedwig H.	$\frac{1}{64}$	0
Mutter H.	$\frac{1}{128}$	$\frac{1}{24}$
Karp.	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{24}$
Nr. 896	$\frac{1}{128}$	$\frac{1}{16}$
Nr. 390	$\frac{1}{256}$	$\frac{1}{24}$

Zur Entscheidung, ob es sich bei dem Agglutinin von Hedwig um ein echtes Agglutinin α handelte, wurde es mit Hilfe des Bindungsversuches aus seinem Serum herausgenommen und sodann aus diesen Erythrocyten durch Absprengung in Kochsalzlösung wiedergewonnen. Diese Agglutinin-Kochsalzlösung — im folgenden als Abhub bezeichnet — sowie das absorbierte Serum Hedwig selbst waren in ihrer Wirkung auf Erythrocyten *A* bekannter Empfindlichkeit zu prüfen. Es wurde erwartet, daß durch die Absorption an empfindliche *A*-Erythrocyten

alles Agglutinin aus dem Serum entfernt und ein beträchtlicher Teil im Abhub enthalten sein würde. Im einzelnen wurde wie folgt verfahren.

5 ccm einer 5proz. Aufschwemmung empfindlicher Erythrocyten *A* Nr. 964 wurden dreimal mit je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Dieses Sediment wurde nach Zusatz von 0,9 ccm Serum Hedwig H. unter gelegentlichem Schütteln 18 Stunden im Eisschrank belassen. Dann wurde das Serum abpipettiert und der Bodensatz dreimal mit je 10 ccm kalter physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Zuletzt wurden 0,5 ccm Kochsalzlösung hinzugegeben, geschüttelt, zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit auf ihren Agglutiningehalt untersucht. Sie erwies sich bei Prüfung mit empfindlichen Vergleichserythrocyten (Er. L. und Er. Nr. 964) als völlig frei von Agglutinin. Hierauf folgte der eigentliche Absprengeversuch, indem abermals 0,4 ccm physiologischer Kochsalzlösung zum Sediment gegeben, das Ganze für 5 Min. bei 54° gehalten und in der Wärme zentrifugiert wurde. Mit dem so erhaltenen Abhub sind die Reaktionen, die in der Tabelle 3 zusammengestellt sind, erhalten worden.

Tabelle 3.

Er. L.	Nr. 964	Nr. 931	Nr. 938	Nr. Eckh.	Nr. 952	Nr. 945	Nr. 943	Erythrocyten <i>A</i>
$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{2}$	—	$\frac{1}{3}$	Abhub
$\frac{1}{128}$	$\frac{1}{256}$	$\frac{1}{128}$	$\frac{1}{64}$	$\frac{1}{64}$	$\frac{1}{64}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{64}$	Testserum α Nr. 241
$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	—	—	—	—	—	—	absorbiertes Serum Hedwig

Zunächst zeigte sich, daß dieser Abhub mehrere *B*- und *O*-Blute nicht agglutinierte, dagegen alle von 4 Bluten *AB*. Seine Wirkung auf 8 *A*-Blute ist durch die Titerwerte der 1. Horizontalreihe von Tabelle 3 dargestellt. Nur 1 Blut (Nr. 945) wurde nicht agglutiniert; es ist dasselbe, das auch mit dem unbehandelten Serum Hedwig H. nicht reagiert hatte. Durch die in der 2. Horizontalreihe von Tabelle 3 aufgezeichnete Bestimmung der Titerwerte der 8 *A*-Blute mit starkem Testserum zeigte sich, daß das Blut Nr. 945 von allen das am wenigsten empfindliche Agglutinogen *A* besitzt. Eine geringe Steigerung in der Empfindlichkeit der Erythrocyten führt zur Agglutination mit dem Abhub (siehe die Blute Nr. 938, 952, 943). Die untere Horizontalreihe der Tabelle 3 zeigt, daß das absorbierte Serum von den 3 höchst empfindlichen Erythrocyten *A* nur 2 agglutiniert hat, es ist also nicht die gesamte agglutinierende Substanz aus ihm entfernt worden.

Besprechung der Ergebnisse.

Lattes und Cavazutti² berichteten bereits im Jahre 1924 über ein scheinbar agglutininhaltiges *AB*-Blut; eingehende Untersuchungen

ergaben aber, daß es sich um Pseudoagglutination gehandelt hatte. *Landsteiner*³ diskutierte im Jahre 1925 5 *AB*-Blute, deren Sera nicht frei von Agglutinin waren. Drei von diesen Fällen scheiden aus, weil es sich bei ihnen offenbar um ein Kälteagglutinin gehandelt hat, wenn auch nach *Landsteiner* zwischen Kälte- und Normalagglutinin keine scharfe Grenze gezogen werden kann. Die beiden übrigen *AB*-Blute (*Barnett* und *Sn.*) wurden von Seris α , $\alpha\beta$ und β agglutiniert. Gegen Sera der Gruppe *AB* wurden sie aber anscheinend nicht angesetzt, so daß eine Pseudoagglutination hier nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann. Die Sera dieser beiden Blute agglutinierten die eigenen Erythrocyten nicht, sie gaben aber im Falle *Barnett* mit 16 von 21 *A*-Bluten und im Falle *Sn.* mit 24 von 31 *A*-Bluten positive Reaktionen. Das Agglutinin ließ sich im Bindungsversuche entfernen. Untersuchungen über die Titerwerte der Sera gegenüber Vergleichserythrocyten sind nicht angestellt worden. *Landsteiner* ist vielmehr der Ansicht, daß für die negativen Anti-*A*-Reaktionen dieser Sera nicht quantitative sondern qualitative Verhältnisse verantwortlich zu machen seien. Diejenigen *A*-Blute, welche von den Seris *Barnett* und *Sn.* agglutiniert worden sind, sollen neben dem Faktor *A* noch einen besonderen Faktor A^1 enthalten, auf den das Agglutinin dieser Sera genau abgestimmt sei, so daß es mit α^1 bezeichnet werden müßte. Diejenigen *A*-Blute, welche hier positiv reagiert hatten, waren nämlich die gleichen, welche auch mit einem mit *A*- und *B*-Erythrocyten absorbierten Serum der Gruppe *O* noch Agglutination zeigten; die nicht von den Seris *Barnett* und *Sn.* agglutinierten *A*-Blute reagierten auch nicht auf das absorbierte Serum der Gruppe *O*. Jedoch gaben 3 von 7 *A*-Bluten, bei denen *Landsteiner* auf Grund der fehlenden Agglutination mit dem absorbierten Serum der Gruppe *O* kein A^1 vermutete, mit dem Serum *Sn.* noch schwache Reaktionen, weshalb er vermutet, daß die Wirkung von α^1 nicht streng auf A^1 beschränkt sei, sondern auch etwas auf *A* übergriffe. Er bedient sich darum der Zeichen A^1 und α^1 , anstatt C und γ früherer Autoren. AA^1 -Blute sind, wie *Lattes*² gezeigt hat und *Landsteiner* bestätigt, deutlich empfindlicher als *A*-Blute. Es ist zu vermuten, daß die zur Absorption des Serums $\alpha\beta$ verwendeten *A*-Erythrocyten wenig empfindlich gewesen sind, so daß in dem absorbierten Serum noch genug Agglutinin α enthalten war, um die empfindlicheren *A*-Blute zu agglutinieren. Weitere Beobachtungen führten *Landsteiner* zu einer Dreiteilung der Gruppe *AB* in Blute von der Formel *AB*, AA^1B und solche von der Formel $AB\alpha^1$. Denn *Landsteiner*³ fand, daß ein mit Erythrocyten *A* und Erythrocyten *B* absorbiertes Serum *AFC* der Gruppe *O* die Erythrocyten *Barnett* nicht, wohl aber die eines anderen *AB*-Blutes agglutinierte. Er nimmt daher an, daß das letztgenannte Blut den Faktor A^1 enthielte, also AA^1B zu schreiben sei, jenes von *Barnett* aber nicht.

Das absorbierte Serum *O* sollte das entsprechende Agglutinin α^1 enthalten. Ebenso sollte auch das Serum Barnett das Agglutinin α^1 enthalten, denn es ergab sich, daß es ebenfalls jenes AA^1B -Blut agglutinierte. Weil aber das Serum *AFC* mit schwachen Erythrocyten *A* (die nicht den Faktor A^1 enthielten) absorbiert worden war, wird man, schon im Hinblick auf meine eigenen vorstehenden Versuche vermuten dürfen, daß der in dem vorbehandelten Serum *AFC* enthaltene Rest an Agglutinin α hingereicht hat, um die empfindlicheren Erythrocyten des normalen *AB*-Blutes zu agglutinieren. Denn die Agglutinin-Bindungsfähigkeit der Erythrocyten geht ihrer Empfindlichkeit offenbar parallel (vgl. dazu z. B. das Verhalten der Erythrocyten Hedwig H. mit jenem der Erythrocyten Nr. 964). Andererseits scheint tatsächlich im Falle des Blutes Barnett ähnlich wie beim Blute Hedwig H. ein wenig empfindliches Agglutinogen *A* vorzuliegen. Demgegenüber ist das Agglutinin des Serums von Hedwig H. entschieden stärker als das des Serums Barnett, denn es wirkt, wie gezeigt worden ist, auch auf so ausgesprochen schwache *A*-Blute, wie wir sie in der Familie H. finden. In den beiden Fällen von 27 *A*- bzw. *AB*-Bluten, wo das Serum Hedwig keine Agglutination bewirkte (Erythrocyten Oskar H. und Nr. 945), handelte es sich auch gegenüber einem starken Testserum um auffallend wenig empfindliche Erythrocyten. Es ist daher kein Grund vorhanden, dieses Agglutinin des Serums Hedwig als α^1 zu bezeichnen.

*Landsteiner*³ hat ferner versucht, eine reine Lösung von α^1 in physiol. Kochsalzlösung herzustellen, indem er aus einem Serum der Gruppe *B*, welchem er die Zusammensetzung $\alpha\alpha^1$ zuschrieb, das Agglutinin α an reichliche Mengen schwach empfindlicher Erythrocyten *A* band und aus dem so vorbehandelten Serum mittels hoch empfindlicher Erythrocyten AA^1 das Agglutinin α^1 herausnahm und in Kochsalzlösung absprengte. Diese sog. Lösung 2 studierte er mit einer das gewöhnliche Agglutinin α enthaltenden Kochsalzlösung (Lösung 1) in ihrer vergleichsweisen Wirkung auf Erythrocyten *A* und AA^1 . Bringt man sein

Tabelle 4 (nach *Landsteiner*; Reaktionen bei 25°).

AA^1	<i>A</i>	
$\frac{1}{128}$	$\frac{1}{64}$	Lösung 1
$\frac{1}{32}$	—	Lösung 2

Ergebnis in eine meiner eigenen Tabelle 6 angepaßte Form, so ergibt sich nebenstehende Tab. 4.

Auch das Resultat dieser Tabelle 4 läßt sich meiner Meinung nach einfacher auf Grund des Vorliegens quantitativer Verhältnisse

deuten. Danach wäre bei Herstellung der Lösung 2 nichts anderes geschehen, als daß *Landsteiner* mit einer geringen Menge empfindlicher Erythrocyten den nicht unbeträchtlichen Agglutininrest, der nach der Vorbehandlung des Serums mit (wenn auch reichlichen Mengen) wenig empfindlichen Erythrocyten *A* noch immer in ihm enthalten war, end-

gültig herausnahm und in Kochsalzlösung absprengte. Lösung 1 wurde so erhalten, daß schwache Erythrocyten *A* mit reichlichen Mengen von Serum α zusammengebracht wurden und der von ihnen gebundene Betrag an α zum größten Teil in Kochsalzlösung abgesprengt wurde. Daß unter solchen Umständen Lösung 2 schwächer sein muß als Lösung 1, andererseits aber Agglutinin noch enthalten muß, ist ersichtlich. Schließlich unterschied *Landsteiner* die Testerythrocyten *A* von denen der Struktur *AA*¹ wiederum nur durch die Wirksamkeit eines absorbierten Serums der Gruppe *O*, wobei wiederum die quantitativen Verhältnisse maßgebend gewesen sein dürften.

Wenn daher die Annahme eines besonderen Agglutinins α ¹ und eines besonderen Agglutinogens *A*¹ nicht notwendig erscheint, so bleibt die Frage, wie man erklären soll, daß in einem Blute *AB* das Agglutinin α enthalten sein kann, ohne zu einer Autohämagglutination zu führen. Von der Tatsache, daß das Serum von Hedwig H. die eigenen Erythrocyten nicht agglutiniert, kann man sich leicht im Reagenzglasversuch überzeugen. Es ist nichts im Wege, auch innerhalb des Organismus die quantitativen Beziehungen zwischen der agglutinierenden Kraft des Serums und der individuellen Empfindlichkeit der Erythrocyten für das Ausbleiben der Autohämagglutination verantwortlich zu halten. Daß ein Agglutinin dort vorkommen kann, wo es dem Schema nach nicht hingehört, führt mich zu der Annahme, daß in jedem menschlichen Serum normalerweise die Agglutinine α und β gebildet werden, daß sie aber, wenn sie zur Zeit ihrer Entstehung die im Körper fertig ausgebildeten entsprechenden Agglutinogene vorfinden, von diesen gebunden werden, so daß keine Autohämagglutination eintritt. Bei schwach empfindlichen und daher wenig bindungsfähigen Agglutinogenen könnte dann ein gewisser Betrag an freiem Agglutinin im Serum gefunden werden. — Diese Bindung müßte durch die in großer Zahl vorhandenen roten Blutkörperchen des Individuums erfolgen; die rasche Folge in ihrem Zugrundegehen und ihrer Regeneration würde die stetige Nachlieferung frischer bindungsfähiger Elemente mit sich bringen. Aber auch die Körperzellen können sich vielleicht beteiligen; *Witebsky*⁵ spricht auf Grund des Nachweises von Gruppenmerkmalen in Organen des Menschen bereits von Zellgruppen, anstatt von Blutgruppen. Bei dem Ausbleiben einer Autohämagglutination während dieser gedachten physiologischen Bindung von Agglutininen durch die entsprechenden Agglutinogene müssen wieder quantitative Verhältnisse eine Rolle spielen. Daß es sich in diesem Falle um das Mengenübergewicht der bindungsfähigen Elemente gegenüber den zu bindenden Substanzen handeln wird, dürfte folgender Versuch wahrscheinlich machen.

Es ist seit langem durch Erfahrung sichergestellt, daß eine Bluttransfusion immer dann mißlingen muß, wenn die roten Blutkörperchen

des Spenders von dem Serum des Empfängers *in vitro* agglutiniert werden. In allen anderen Fällen pflegt die Transfusion unbedenklich ausgeführt zu werden, auch dann, wenn das Serum des Spenders *in vitro* die Erythrocyten des Empfängers agglutiniert. Zur Erklärung der letztgenannten Beobachtung hat man bisher angenommen (vgl. z. B. *Ottensberg*⁴), daß das Spenderserum bei der Transfusion soweit verdünnt würde, daß das Agglutinin nicht mehr wirken könnte. Nehmen wir einmal an, wir transfundierten einem Patienten der Gruppe *A* mit der Blutmenge von 3500 ccm im ganzen 800 ccm Blut eines „Universalspenders“ (d. h. etwa 400 ccm Serum $\alpha\beta$), so wäre unser Serum auf 1:5,5 bzw. auf 1:11 verdünnt, wenn wir nämlich die Masse der fremden roten Blutkörperchen als Lösungsmittel hinzurechnen wollen. Es ist eine Seltenheit, wenn ein Serum in der Verdünnung $\frac{1}{11}$ auf *A*-Erythrocyten *in vitro* und bei den üblichen Methoden nicht mehr agglutiniert. Es lag daher nahe zu untersuchen, ob nicht anstatt der Verdünnung des Serums die Menge der Erythrocyten für die agglutinierende Wirkung eines Serums ausschlaggebend sei. Zu diesem Zweck wurde untersucht, ob nicht auch *in vitro* bei Einhaltung der Mengenverhältnisse, wie sie in der gedachten Transfusion angenommen worden sind, die positive Reaktion des Serums auf Erythrocyten *A* ausbleibt. Verwendet man in der üblichen Reagenzglas-*methode* 4 Tropfen einer 2proz. Aufschwemmung von Erythrocyten (d. h. 0,001 ccm Erythrocyten abzüglich des zugehörigen Serums) und 2 Tropfen unverdünnten Testserums (d. h. 0,05 ccm Serum), so ist der Quotient $\frac{Er}{S} = \frac{0,1}{5}$. In unserem Transfusionsfalle $\frac{3500 A}{800 O}$ beträgt er $\frac{21,9}{5}$. Wir haben dann die in Tabelle 5 angegebene Vergleichsreihe untersucht. In dieser Reihe wurden zwischen den beiden genannten Quotienten eine Anzahl von Abstufungen hergestellt.

Tabelle 5.

Schüttelblut $A\beta$	Serum $\alpha\beta$	Quotient zwischen beiden, auf den Nenner 5 gebracht	Reaktion
0,035	0,008	21,9 : 5	—
0,25	0,05	12,5 : 5	—
0,1	0,05	5,0 : 5	+
0,05	0,05	2,5 : 5	++
0,02	0,05	1,0 : 5	+++
0,03	0,1	0,75 : 5	+++
0,01	0,05	0,5 : 5	+++
0,02	0,5	0,1 : 5	+++

Abgelesen wurde nach wiederholtem Schütteln nach einer und nach 18 Stunden makroskopisch durch Schräghalten des Gläschens sowie

mikroskopisch durch Untersuchung eines mit der Capillare aus jedem Röhrechen herausgenommenen halben Tropfens, welcher auf dem Objektträger, mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:2 verdünnt, betrachtet wurde. Schließlich wurden auch Reagenzglasversuche nach der Methodik von Schiff gemacht, indem je 1 Tropfen der Blutmischung mit der entsprechenden Menge Kochsalzlösung verdünnt und zentrifugiert wurde. Die Ergebnisse waren immer dieselben. Ferner wurden parallele Versuchsreihen angesetzt, in denen dem Schüttelblut A verschieden große Mengen von Serum β von vornherein zugegeben wurden; eine prinzipielle Änderung der Reaktionen ergab sich dadurch nicht. Nach der üblichen Methodik wurde ferner der Titer des benutzten Serums $\alpha\beta$ zu $\frac{1}{128}$ (gemessen an Er. L.) bestimmt; die Erythrocyten A des zu den Untersuchungen verwendeten Schüttelblutes wurden von diesem Serum $\alpha\beta$ nach der üblichen Methodik bis $\frac{1}{32}$ agglutiniert. Das aus den Versuchen mit den Quotienten $\frac{12,5}{5}$ und $\frac{21,9}{5}$ nach 18 Stunden gewonnene Serum agglutinierte die Vergleichserythrocyten beidemale bis 1:2.

Es ergibt sich hieraus, daß von einer bestimmten Mindestmenge von roten Blutkörperchen an aufwärts die Agglutination unterbleibt, trotzdem normale Bindung stattfindet und der Verdünnungsgrad des Serums an sich die positive Reaktion ermöglichen würde. Diese Menge an Erythrocyten beträgt im Verhältnis zur Menge des zum Agglutinationsversuche verwendeten Serums bei mittlerem Titer des letzteren und durchschnittlicher Empfindlichkeit der ersteren schätzungsweise 2:1. Man wird nicht fehlgehen, wenn man annimmt, daß der Organismus mit seinen ausgebildeten Agglutinogenen den in ihm entstehenden Agglutininmengen ein sehr viel größeres Zahlenverhältnis gegenüberzustellen in der Lage ist.

Alle diese Überlegungen führen zur Aufstellung eines neuen (erweiterten) Blutgruppenschemas, wie es in Tabelle 6 wiedergegeben ist.

Tabelle 6.

Blutgruppe O	Blutgruppe A homozygot	Blutgruppe B homozygot
$\frac{e}{e} \alpha\beta$	$\frac{E_A}{E_A} (\alpha)\beta$	$\frac{E_B}{E_B} \alpha(\beta)$
$\frac{E_A}{E_B} (\alpha)(\beta)$	$\frac{E_A}{e} (\alpha)\beta$	$\frac{E_B}{e} \alpha(\beta)$
Blutgruppe AB	Blutgruppe A heterozygot	Blutgruppe B heterozygot

In dieser Tabelle 6 bedeutet die Einklammerung eines für ein Agglutinin stehenden Zeichens, daß das betreffende Agglutinin — da in Kom-

ination mit dem entsprechenden Agglutinogen — in der Regel nicht nachweisbar ist. Durch Fortlassung der Klammern (in Gruppe $\frac{E_A}{E_B}(\alpha)(\beta)$ einer oder beider) ergeben sich die denkmöglichen Abweichungen vom Schema. Von diesen Abweichungen sind Blute von der Formel $AB\beta$ (mit schwachem B) und $AB\alpha\beta$ (mit schwachem A und schwachem B) noch nicht beschrieben worden. Dagegen hat Beck⁶ das Blut $A\alpha\beta$ (welches er als zur Untergruppe $C\alpha\beta$, worin C soviel wie A^1 bedeutet, gehörig auffaßte) gefunden, nachdem ein gleiches Blut vor ihm schon von Landsteiner³ beschrieben worden war; derselbe Autor berichtete gleichzeitig von einem Blute, welchem die Formel $B\alpha\beta$ zukommen würde, jedoch war die Reaktion mit Bluten der gleichen Gruppe in beiden Fällen nur schwach und trat auch nur bei je einem der 3 untersuchten Blute A (bzw. B) auf. Auch Unger⁷ fand schwache Agglutination von Erythrocyten durch Sera der gleichen Blutgruppe. Quantitative Untersuchungen sind in keinem Falle angestellt worden. Das gilt auch für jene andere Art bekannt gewordener Abweichungen vom Schema, die sog. defektiven Typen (z. B. A_0 , $O\beta$); hier liegen in der Mehrzahl der Fälle vermutlich Fehlbestimmungen vor, indem entweder wenig empfindliche Agglutinogene durch Verwendung schwacher Testsera dem Nachweise entgangen sind oder schwache Agglutinine mit ungenügend empfindlichen Erythrocyten geprüft worden sind, wiewohl es denkbar ist, daß ein Agglutinin gelegentlich so schwach ausgebildet sein kann, daß es auch mit hochempfindlichen Erythrocyten nicht reagiert. Jedoch sollten derartige defektive Reaktionen von Zeit zu Zeit überprüft werden, weil es bekannt ist, daß vorübergehende Abnahmen des Agglutinintiters vorkommen, z. B. während der Menstruation.

Ein Versuch, mit Hilfe der Titerbestimmung der Agglutinine das Vorliegen der Rein- oder Mischerbigkeit einer Blutgruppe festzustellen, ausgehend von der Vorstellung, daß der Titer bei homozygoter Beschaffenheit des Gruppenmerkmals höher als bei heterozygoter sein müßte, hat keine Aussicht auf Erfolg. Wenn die Agglutinine auch genisch bedingt sind, vielleicht sogar einer quantitativen Gesetzlichkeit (multipler Allelomorphismus?) folgen, so sind sie doch sicher nicht, wie die Agglutinogene, nach dem bekannten einfachen alternativen Mendel-Schema vererbbar.

Daß eine Notwendigkeit, das Serum der einzelnen Blutgruppen a priori als verschieden anzunehmen, nicht besteht, hat bereits der Mathematiker Bernstein⁸ auf Grund theoretischer Überlegungen ausgesprochen. Er hat darauf hingewiesen, daß sich Agglutinine und Agglutinogene in den Erberscheinungen nicht vertauschen lassen, indem z. B. bei Kindern AA oder BB , welche Ehen $AB \times AB$ entstammen, Agglutinine auftreten, die in den Seris der Eltern nicht vorhanden sind. Im

Gegensatz dazu treten bekanntlich die Agglutinogene in den Kindern immer nur dann auf, wenn sie in den Eltern vorhanden sind.

Das zweite Blut AB α .

Die quantitativen Untersuchungen des zweiten Blutes AB α (Fall Zand.) sind wegen einiger Schwierigkeit in der Beschaffung frischer Blutproben — 2 Proben sind bis jetzt untersucht worden — noch nicht abgeschlossen, es fehlen der Agglutinin-Bindungs- und -Absprengungsversuch. Im übrigen verhält sich das Blut dem von Hedwig H. sehr ähnlich: Das Serum agglutiniert die Vergleichserythrocyten A (Er. L.) bis 1:32. Das Testserum α Nr. 241 agglutiniert die Erythrocyten Zand. nur bis 1:8, das Testserum β Nr. 870 agglutiniert dieselben bis 1:128.

Überblicken wir zum Schluß das bisher auf dem Gebiete der Blutgruppenforschung Erreichte, so stehen wir vor jenen alten Sätzen der Vierheit der Blutgruppen als dem Fundament des Ganzen, das gesichert feststeht. Trotzdem birgt dieses Gesetz in sich die Möglichkeit, sich unbeschadet seiner Gültigkeit über seine Grenzen hinaus auszudehnen. So sehen wir, daß sich 6 Blutgruppen formulieren lassen, sowie wir einen Weg zur Diagnose der Rein- oder Mischerbigkeit der Gruppenmerkmale gefunden haben werden. Das Gebiet der Abweichungen vom Schema ist das Interessanteste, denn es gewährt Einblicke in die Struktur der Gesetze und erlaubt, den Rahmen des Bekannten wieder zu erweitern.

Für die forensische Praxis ergibt sich die Notwendigkeit, Blutgruppenbestimmungen nur mit Testblutkörperchen bekannter Empfindlichkeit und mit Testseris von bekanntem und genügend hohem Titer vorzunehmen.

Literaturverzeichnis.

¹ Schiff, F., Technik der Blutgruppenbestimmung für Kliniker und Gerichtsärzte. Berlin, Springer 1926. — ² Lattes und Cavazutti, Journ. of immunol. 1924, S. 407. — ³ Landsteiner, K., und Dan H. Witt, Observations on the human blood-groups. Journ. of immunol. 1926, Nr. 3. — ⁴ Ottenberg und Kaliski, Journ. of the Americ. med. assoc. 1923, Nr. 21. — ⁵ Witebsky, E., und K. Okabe, Über den Nachweis von Gruppenmerkmalen in den Organen des Menschen. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Bd. 52, H. 5—6. — ⁶ Beck, Münch. med. Wochenschr. 1927, Nr. 10. — ⁷ Vgl. Culpepper und Ableson, Journ. of laborat. a. clin. med. 6. — ⁸ Bernstein, F., Zeitschr. f. induct. Abstammungs- u. Vererbungslehre 37, 257. 1925.