

Ein Abguß $1/32$ gegen M und $1/4$ gegen M_3N wurde nach dem Vorschlag von *W. Fischer** mit den Blutkörperchen M_3N und zur Kontrolle mit N wiederholt abgesättigt, und zwar mit $1/2$ Volumen 20 Minuten bei 37° , mit $1/2$ Volumen 30 Minuten bei Zimmertemperatur, mit $1/3$ Volumen 30 Minuten bei Zimmertemperatur, mit $1/2$ Volumen 30 Minuten bei -5° und schließlich mit $1/3$ Volumen 30 Minuten bei $+5^\circ$. Nach diesen 5 Absättigungen zeigte der Abguß von N eine Titersenkung von einer Stufe gegen Blutkörperchen M. Der Abguß von M_3N war um 3—4 Stufen schwächer als der des Ausgangsserums. Er agglutinierte M-Blutkörperchen in einer Verdünnung von $1/2$ (+) und $1/4$ in geringsten Spuren. Das in dem Serum enthaltene Anti-M war demnach durch das M_3N nicht zu erschöpfen. Die Abschwächung des Ausgangsserums war etwa gleich stark wie bei einer einmaligen Absorption mit $1/4$ Sediment Blutkörperchen M_3N $1/2$ Stunde bei Zimmertemperatur. Die wiederholten Absättigungen haben eine wesentliche Titersenkung nicht herbeigeführt.

Der andere von uns (*Pietrusky*) konnte folgendes feststellen: Die benutzten Abgüsse von 12 verschiedenen Rohseren Anti-M hatten einen Titer von $1/52$ bis $1/512$ gegen MN (also etwa von $1/64$ bis $1/1024$ gegen M). Von den 4 Gebrauchsseren $1/32$ reagierte eines überhaupt nicht, eines im 1. Glas (+), eines im 1. Glas + und das letzte in einer Verdünnung von $1/2$ (+). Von den 3 Abgüssen $1/64$ gaben zwei mit dem Faktor keine Agglutination, einer war bei einer Verdünnung von $1/4$ +. 3 Abgüsse hatten einen Titer von $1/128$, von denen einer die Blutkörperchen M_3 nicht verklumpte, einer in der 1. Stufe mit ihnen positiv reagierte und einer in einer Verdünnung von $1/8$ deutlich die Blutkörperchen agglutinierte. Ein Abguß, der einen Titer von $1/256$ gegen MN hatte, gab in einer Verdünnung von $1/8$ ein positives Ergebnis, ein anderer $1/512$ agglutinierte das M_3 ebenso stark wie MN. Mit zwei der

* Prof. Dr. *Werner Fischer* hatte, veranlaßt durch einen von uns (*Hausbrandt*) die Freundlichkeit, eine ihm übersandte kleinere Blutprobe seinerseits zu untersuchen. Im Agglutinationsversuch wurde mit 5 verschiedenen gegenüber MN-Blutkörperchen einen Titer von 16—64 aufweisenden Seren gegenüber unseren M_3 -Blutkörperchen eine Titerdifferenz von durchgehend 2 bis 4 Stufen weniger erzielt. Der wegen Geringfügigkeit des Materials einzige Absättigungsversuch (mit 3maliger Absorption von 0,5 ccm Abguß an jeweils 0,25 ccm M_3 , daneben als Kontrolle an 3mal 0,25 ccm N-Blutkörperchen) ergab bei gleichbleibendem Titer des mit N-Blutkörperchen absorbierten Serums von $1/64$ gegenüber MN-Blutkörperchen eine Abschwächung des Titers durch Absättigung mit M_3 auf $1/1$ — $1/2$. Es war demnach zu einer starken Abschwächung, aber nicht zur völligen Erschöpfung des Anti-M-Abgusses gekommen. Herr Prof. *Fischer* ließ die Frage offen, ob die wegen Materialmangels unterlassene 4. oder 5. Absättigung zu einer völligen Erschöpfung geführt haben würde. Nur wenn dieses nicht der Fall sein sollte, könne seiner Auffassung nach ein qualitativer Teilrezeptorenunterschied als bewiesen angesehen werden.

negativ reagierenden Seren konnte, wenn aus den gleichen Rohseren Abgüsse mit höherem Titer hergestellt wurden, auch eine Reaktion erzielt werden. Wurden die Blutserumgemische stärker zentrifugiert, dann war bei einem der negativ reagierenden Seren noch ein schwach-positives Resultat zu erhalten.

Aus den von uns erhobenen Agglutinationsbefunden ist zu entnehmen, daß die Stärke der Verklumpung des M_3 nicht von der Titerstärke des Anti-M-Serums abhängt. Mit 14 der 32 benutzten Seren war der Faktor nicht nachweisbar, und zwar reagierten 11 überhaupt nicht, 3 so schwach, daß auf dieses Ergebnis hin keine sichere Diagnose zu stellen ist. Bei den restlichen 18 war das Ergebnis mehr oder weniger deutlich. Während ein Abguß von $1/128$ gegen MN die Blutkörperchen nicht verklumpte, war mit niedrigeren Abgüssen aus anderen Rohseren, selbst mit einem solchen von $1/8$ gegen M, eine Agglutination zu erhalten. Man darf vermuten, daß die Ursache in der mehr oder weniger schwachen Ausprägung dieses oder jenes Teilreceptors dieses Faktors bzw. seinem Fehlen zu suchen ist, wie auch in der Stärke der Teilagglutinine der benutzten Seren. Der Unterschied vom M_3 zum normalen M dürfte also ein quantitativer bezüglich der Stärke der Teilreceptoren sein. Ob es auch andere, qualitativ verschiedene Merkmale gibt, muß erst noch festgestellt werden. Würde es sich um eine allgemeine Abschwächung eines normalen Receptors M handeln, der also alle normalen Teilreceptoren, nur abgeschwächt, enthält, dann könnten so hohe Differenzen bei den einzelnen Seren gleicher Titerstärke nicht auftreten, ganz abgesehen von der gleich starken Reaktion wie mit MN in einem Falle. Hätten alle Antiseren normalen Bau, d. h. alle Teilagglutinine gegen M, dann müßten sie, wenn sie gleich stark gegen normales MN wären, auch gleich stark mit einem solchen Faktor reagieren, selbst wenn dieser oder jener Teilreceptor bei M_3 fehlen sollte. Man wird deshalb vermuten können, daß für die erhobenen Befunde sowohl eine verschieden starke Ausbildung der Teilreceptoren des Faktors wie eine verschieden starke Ausprägung der Teilagglutinine der Seren verantwortlich zu machen sind.

Die Absorptionsuntersuchungen (*Pietrusky*) wurden mit verschiedenen der nicht, bzw. der schwächer mit M_3N als mit MN reagierenden Antiseren und entsprechenden Kontrollen vorgenommen. Das Ergebnis entsprach dem Verhalten bei der Agglutination. Ein Serum, das den Faktor nicht agglutinierte, wurde durch das M_3 nicht abgeschwächt, bei den anderen schwankte die Titer senkung zwischen $1\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$ Stufen. Der Unterschied zwischen der Absorptionskraft von MN und M_3N war je nach dem benutzten Serum mehr oder weniger groß. Der mit beiden Bluten gleich stark agglutinierende Abguß konnte aus äußeren Gründen nicht absorbiert werden. Bei $+5^\circ$ bindet das M_3 um $1\frac{1}{2}$ Stufen mehr als bei 37° . Daß ein mit MN stark reagierendes Serum die Blutkörperchen

M₃N nicht agglutiniert und von ihm auch nicht abgeschwächt wird, spricht dafür, daß es keine Antikörper gegen die Teilreceptoren M₃ in meßbarer Stärke enthält, ebenso wie das Ergebnis des oben erwähnten Versuchs (*Hausbrandt*) durch wiederholte Absorption die Agglutinine zu erschöpfen, in dieser Richtung zu werten ist.

Von mehreren Absprengungsversuchen sei ein Ergebnis angeführt.

Zu je 1 ccm Serum wurden 0,25 ccm 3 mal gewaschener Blutkörperchen zugesetzt, 1 Stunde bei 37° stehen gelassen und zentrifugiert. Der Bodensatz wurde 5 mal in physiologischer Kochsalzlösung von 0° gewaschen. Zu den abgesetzten Blutkörperchen wurde nach Abhebern des letzten Waschwassers 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung von 56° zugesetzt. Es wurde abgesprengt und bei dieser Temperatur zentrifugiert. Untersucht wurden die Abgüsse, das letzte Waschwasser und die Absprengungsflüssigkeit der benutzten Blutkörperchen N, MN und M₃N.

Tabelle 1.

Verdünnungsstufen		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Ausgangs- serum Anti-M	+ Bk. M	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	(+)
	+ „ N	+	—							
Abguß von Blut- körper- chen	N + „ M	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—
	N + „ N	—								
	MN + „ M	++	+	(+)	—					
	MN + „ N	—								
	M ₃ N + „ M	+++	+++	++	++	(+)	—			
M ₃ N + „ N	—									
Ab- sprengsel von Blut- körper- chen	N + „ M	—								
	N + „ N	—								
	MN + „ M	+++	+++	+++	++	++	(+)	—		
	MN + „ N	—								
	M ₃ N + „ M	+++	+++	+++	++	++	+	(+)	—	
M ₃ N + „ N	—									

Das letzte Waschwasser enthielt keine Agglutinine. Die Blutkörperchen N haben keine Agglutinine Anti-M absprengen lassen, doch sind nicht selten in der Absprengungsflüssigkeit geringe Mengen nachzuweisen, vor allem, wenn die Absorption nicht bei 37°, sondern bei Zimmer-temperatur und bei 5° erfolgte. Auch genügt ein dreimaliges Waschen der Blutkörperchen nach der Absorption und vor der Absprengung nicht, um alle die „sekundär gebundenen“ oder „physiologisch gekoppelten“ (*Thomsen, Hirschfeld*) Anti-M-Agglutinine von den Blutkörperchen N zu entfernen. Die Blutkörperchen M₃N haben weniger Agglutinin aus dem Serum gebunden als MN und trotzdem etwas mehr als diese absprengen lassen (in anderen Fällen allerdings auch etwas weniger). Aus der abgegebenen Menge zu schließen, daß bei ihnen eine schwächere Bindung mit dem Agglutinin vorliegt als bei MN, wird nicht ohne weiteres möglich sein. Wenn wir, wie oben gesagt,

annehmen, daß bei M_3 die Teilreceptoren ungleichmäßig stark ausgebildet sind, dann ist es möglich, wohl auch wahrscheinlich, daß bei der Bindung der vorhandene Teilreceptoren mit den entsprechenden Teilagglutininen des Serums die Teilagglutinine, für die Teilreceptoren in dem M_3 nicht vorhanden sind, mitgerissen werden. Diese nicht regulär gebundenen werden bei der Abspaltung leichter abgegeben, sie treten im Abspalt auf und können den verhältnismäßig hohen Titer mit den normalen Blutkörperchen M bedingen. Es ist demnach nicht ohne weiteres anzunehmen, daß hier die Verhältnisse ebenso liegen wie bei den Blutkörperchen A_1 , A_2 und A_3 .

Wurde ein Serum benutzt, das die Blutkörperchen M_3N nicht agglutinierte, dann wurden aus ihm Agglutinine nicht gebunden und die Blutkörperchen M_3 ließen auch keine absprengen. Sie reagierten wie Blutkörperchen N.

Der von uns beschriebene Faktor unterscheidet sich vom M_2 . Dieses war mit allen benutzten Seren deutlich schwächer als ein normales M zu erkennen, im Gegensatz zu M_3 , das von einem Serum in ebenso starker Verdünnung wie MN agglutiniert wurde. Während das M_2 mit allen guten damals benutzten Abgüssen von wenigstens $1/16$, wenn auch verschieden stark, nachweisbar war, ist das bei unserem Faktor nicht der Fall. Auch recht gute Gebrauchsseren versagen beim Nachweis. Bei fast der Hälfte unserer Seren, unter ihnen auch hochwertige, war das der Fall. Man wird vermuten können, daß in diesem Faktor mehr Teilreceptoren schwächer ausgebildet sind als beim M_2 . Das M_3 kann nicht als „schwächer“ Receptor angesehen werden, weil es mit einem Serum ebenso stark wie ein MN reagierte. Der Receptor unterscheidet sich aber auch von dem von *Friedenreich* und *Lauridsen*² beschriebenen, besonders zusammengesetzten M. Dieses reagierte mit 5 von den benutzten 30 Anti-M-Seren nicht, von den restlichen wirkte die Hälfte schwächer, $1/4$ gleich stark und $1/4$ stärker als mit einem normalen MN. Unser Faktor zeigte mit keinem Serum eine stärkere und nur mit einem eine gleich starke Agglutination wie mit MN. Er nimmt also eine Mittelstellung zwischen diesem und dem M_2 ein. Die Frage aber, ob das M_2 wie das M_3 nicht auch einmal — wie der Fall von *Friedenreich* und *Lauridsen* — gleich stark bzw. stärker als MN reagieren, wenn mit sehr vielen anderen Seren untersucht wird, muß offen gelassen werden, ist aber nicht unwahrscheinlich.

Wir haben der Kürze halber den Receptor vorläufig M_3 genannt, bis eine passende Bezeichnung für ihn gefunden wird. Es ist nicht möglich, ihn zur Zeit genau zu charakterisieren, insbesondere ist auch nicht zu sagen, um wieviel er schwächer ausgebildet ist als ein normales M. Das hängt von dem benutzten Abguß Anti-M ab. Es gibt kein Standardserum, das jedem Untersucher in gleicher Zusammensetzung

zur Verfügung steht. Jedes Immuserum dürfte etwas anders sein als das andere. Erst wenn mehrere ähnliche Fälle beschrieben worden sind, wird man an die Eingruppierung vielleicht denken können. Es ist möglich, daß es schon Unterschiede gibt, wenn mit Abgüssen *eines* Serums, die durch Absorption mit *verschiedenen* Bluten gewonnen wurden, untersucht wird. Es wäre auch von Wert zu wissen, wie sich das M_3N bei der Immunisierung im Vergleich zu MN verhält. Wir hatten kein Blut mehr, um das u. a. nachzuprüfen.

Das Blut des Kindes dieser Frau hat nur einer von uns (*Hausbrandt*) in frischem Zustand untersuchen können. Es hat ebenfalls die Eigenschaft M_3N . Leider war es nicht möglich, diese Untersuchungen zu gleicher Zeit mit der des beschriebenen M_3N der Kindesmutter durchzuführen. Der eine von uns (*Hausbrandt*) prüfte es in frischem Zustand einige Tage nach dieser Bestimmung mit 8 Anti-M-Abgüssen, die er von der Untersuchung des Blutes der Mutter noch hatte. Sechs dieser Seren agglutinierten das Blut, zwei nicht. Das entsprach dem Verhalten des Blutes der Mutter. Zwei quantitative Bestimmungen ergaben in einem Falle eine Reaktion in gleicher Verdünnung wie mit dem mütterlichen Blut, im anderen Falle war der Titer um eine Stufe niedriger; also auch hier war der gleiche Befund zu erheben. Bei einer früheren Untersuchung wurde vergleichsweise das mütterliche und das kindliche Blut entsprechend dem von *Pietrusky* für die Prüfung auf ein schwaches N angegebenen Verfahren bei 4—5° auf dem Objektträger untersucht. Hierbei zeichneten sich nach 2 Minuten mit dem Blut der Mutter überall schwach positive, nach weiteren Minuten stärker werdende Reaktionen ab. Beim Blut des Kindes hingegen trat nach 2 Minuten nur mit 2 Seren eine schwächere Agglutination auf, die sich nach weiteren Minuten bei obiger Temperatur verstärkte. Die zwei anderen Seren ergaben nach 2 Minuten keine Reaktion, jedoch war mit einem Serum nach 10 bzw. 15 Minuten eine geringe Reaktion abzulesen. Bei einem Serum blieb auch nach 15 Minuten eine Reaktion aus. Die gleichzeitig als Kontrollen angesetzten 5 verschiedenen Reaktionen mit N-Blutkörperchen blieben negativ. Die zwei sowohl beim Blut der Mutter als auch beim Blut des Kindes nach 2 Minuten positiv reagierenden Sera wurden dann noch — dieses Mal unter Hinzufügung von $\frac{1}{30}$ Sed. Vol. von mütterlichen und kindlichen Blutkörperchen — bei Zimmertemperatur in Capillaren vergleichsweise geprüft. Hierbei wurden, verglichen mit MN-Blutkörperchen, stark verspätete Reaktionen und sehr schwache Verklumpungen erzielt. Bei den ein Jahr zurückliegenden ersten Untersuchungen dieses Blutes war eine solche Übereinstimmung bei zwei Seren nicht zu beobachten. Damals reagierte das Blut des Kindes mit dem einen unverdünnten Serum +, mit einem anderen ++. Eine Austitrierung war leider nicht vorgenommen worden. Eine *völlige*

Übereinstimmung in der Rezeptorenstärke ist demnach nicht erwiesen, wenn auch eine recht weitgehende vorliegen dürfte.

Der andere von uns (*Pietrusky*) erhielt eine geringe Menge Blut in Aufschwemmung, das aber infolge der langen Reise nicht mehr einwandfrei war. Mit keinem Anti-M-Serum, insbesondere auch nicht mit solchen höheren Titern ($1/256$), die die M_3 -Blutkörperchen deutlich agglutinierten, war eine Reaktion zu erzielen. Auch hier konnte dieses Blut nicht zusammen mit dem Blut der Kindesmutter untersucht werden. Es wurden neu hergestellte Abgüsse der Seren benutzt. Der negative Befund ist immerhin beachtlich, da wohl das Blut zersetzt war, doch die anderen Faktoren A und N noch nachweisbar waren. Daß der Faktor M_3 bei Zersetzung des Blutes erheblich schwächer wird, hat er mit den anderen Blutgruppeneigenschaften gemeinsam. Daß diese Abschwächung aber stärker im Verhältnis zu der der anderen Faktoren ist, war beim mütterlichen Blut nicht zu beobachten. Jedenfalls ist die Vererbung des M_3 anzunehmen.

Nehmen wir bei M_3 ein selbständiges Gen an, dann erweitert sich das Blutgruppensystem. Aus den beiden Phänotypen M und MN werden 4: M, MN, M_3 , M_3N , aus den beiden Genotypen MM und MN werden 5: MM, MM_3 , M_3M_3 , MN, M_3N . Von den beiden anderen Typen des M wird hier abgesehen. Wie die Genotypen MM_3 und M_3M_3 sich phänotypisch zeigen, ist noch nicht bekannt. Man kann annehmen, daß z. B. ein Kind MN einer Mutter N nicht von einem Manne M_3 oder M_3N stammt. Findet man bei einem Kind M_3N einer Mutter N einen als Erzeuger bezeichneten Mann M_3 oder M_3N , dann wird man bei der großen Seltenheit des Faktors M_3 seine Vaterschaft mit sehr großer Wahrscheinlichkeit annehmen können, wenn die besonderen Faktoren in der Stärke ihrer Teilrezeptoren etwa übereinstimmen. Bevor man aber derartige Schlußfolgerungen, die im übrigen nur sehr selten möglich sein werden, zieht, bedarf es noch vergleichender Untersuchungen dieser Faktoren.

Große praktische Bedeutung kommt dem Receptor schon jetzt zu und zwar wegen der *Unsicherheit seines Nachweises*. Wie oben gesagt, erhielt der eine von uns (*Pietrusky*) das Blut vor einem Jahr zur Nachprüfung zugesandt. Er untersuchte mit 3 verschiedenen Anti-M-Seren $1/123$ und erhielt keine Agglutination. Nur die Tatsache, daß das an sich brauchbare Blut längere Zeit unterwegs war, veranlaßte ihn, erneut um seine Zusendung zu bitten. Wenn ein Untersucher nur ein oder zwei Antiseren für seine Blutgruppenbestimmungen verwendet, dann wird er mit erheblicher Wahrscheinlichkeit einen solchen Receptor selbst dann *übersehen*, wenn seine Seren einen weit über die Mindestforderung hinausgehenden Titer haben. Man wird verlangen müssen, daß Abgüsse von wenigstens 6—8 Rohseren verwendet werden. Dabei kommt es nicht so sehr auf die Höhe des Titers, der jedoch mindestens

$1/32$ sein soll, als auf die Menge der Seren an, wenn auch ein hochwertiges Serum mehr Aussicht für die Erkennung des Faktors bietet. Ob der mit einer solchen Forderung verbundene Zeitverlust, die Arbeit und die nicht geringen Kosten jedem Untersucher, der für die Erstattung von Blutgruppengutachten von RMdI. ermächtigt ist, zugemutet werden kann, sei dahingestellt. Auf jeden Fall wird man es von den Obergutachtern verlangen müssen. Weiter muß man fordern, daß nicht nur wie bisher ein Obergutachten eingeholt werden soll, wenn der Vaterschaftsausschluß auf den Faktor N hin erfolgt, sondern auch wenn dieser auf M vorliegt, also *in jedem Falle, wo ein Ausschluß auf das MN-System angenommen wird*. Hat z. B. die Mutter N, das Kind MN, der Mann N, dann ist er auszuschließen. Der Einwand, daß, selbst wenn der Mann ein M_3 haben sollte, er nicht der Erzeuger des Kindes sein könne, daß ein Obergutachten sich also erübrige, ist nicht ohne weiteres stichhaltig. Sind die Blute von Kind und Mann nicht mit denselben Seren gleicher Titerstärke zu gleicher Zeit untersucht, dann kann je nach dem benutzten Serum das normal erscheinende M des Kindes ein M_3 sein. Manche Seren geben, wie schon oben gesagt, auch mit ihm eine kräftige Verklumpung. Auf der anderen Seite kann bei dem Manne ein M_3 vorliegen und nachweisbar sein, wenn andere Seren zur Bestimmung herangezogen werden.

Zusammenfassung.

Es wird über einen besonderen M-Receptor berichtet, der auch mit recht guten Anti-M-Seren häufig nicht nachgewiesen werden kann, mit anderen eine schwächere und nur mit einem von 32 Abgüssen eine gleich starke Reaktion wie MN zeigte. Die Untersuchung soll mit wenigstens 6—8 guten Gebrauchsseren vom Mindesttiter $1/32$ vorgenommen werden. In allen Fällen von Vaterschaftsausschlüssen auf das MN-System sollen Obergutachten eingeholt werden.

Literaturverzeichnis.

- ¹ Pietrusky, F., Dtsch. Z. gerichtl. Med. 37, 277 (1943). — ² Friedenreich u. Lauridsen, Acta path. scand. (Kobenh.) Suppl. 1938, 155.