

## Die Reaktion von $A_3$ -Blutkörperchen mit Helix-Agglutininen

O. PROKOP, G. UHLENBRUCK, A. RACKWITZ und O. VETTER

Institut für Gerichtliche Medizin der Humboldt-Universität zu Berlin (Direktor: Prof. Dr. med. O. PROKOP), Blutspendedienst der Medizinischen Klinik der Karl-Marx-Universität Leipzig (Direktor: Prof. Dr. R. EMMRICH) und Max-Planck-Institut für Hirnforschung in Köln (Direktor: Prof. Dr. W. TÖNNIS)

Eingegangen am 31. Dezember 1966

In einer Reihe von Arbeiten haben wir in den letzten Monaten über die Helixagglutinine von *Helix pomatia* [1, 3—5, 8—11] und *Helix hortensis* [3, 7] berichtet. An einer Stelle haben wir dargelegt, daß konzentrierte Extrakte aus der Eiweißdrüse von *Helix pomatia* (wenn sie im Frühsommer groß und besonders agglutininreich ist)  $A_1$ -Blutkörperchen mit einem Titer von etwa 1:50000,  $A_2$ -Zellen mit etwa 1:100000,  $A_4$ -Blutkörperchen dagegen nicht anzeigen. Es war nun von großem Interesse, zu prüfen, wie sich die Blutkörperchen der  $A_3$ -Gruppe verhalten. Dabei ist zu bemerken, daß die Reaktionen der sog.  $A_3$ -Gruppe durchaus nicht einheitlich sind, was uns veranlaßte, zu  $A_3$  auch noch eine  $A_3^w$ -Gruppe zu unterscheiden. Was die letztere angeht, so haben wir zeigen können, daß aus einer Elternpaarung  $0 \times A_3^w$  ein  $A_2$ -Kind entstammte, das zuverlässig nicht auf Illegitimität zurückgeführt werden konnte. Der genetische Hintergrund kann nicht näher geklärt werden, zumal in allen anderen Sippenzweigen  $A_3^w$  wie durch ein spezielles Gen (wie man es von  $A_3$ -Typen verlangt) vererbt wurde [6]. Es war deshalb von großem Interesse zu prüfen, wie sich gerade das erwähnte — wie  $A_2$  reagierende Blut — gegenüber Helixagglutininen verhalten würde. Außerdem wurde noch ein weiteres  $A_3$ -Blut („Leipzig“) durch einen von uns (V.) herangezogen, das wegen seiner schwachen Reaktion, der  $A_3$ -Receptor war viel schwächer als  $A_2B$ , Zweifel aufkommen läßt, daß es sich um ein  $A_3$  handelt. An die schwächere Ausgabe  $A_3^w$  oder einen noch schwächeren Typ, der aber nicht  $A_4$  sein konnte, war ebenfalls zu denken. Das Blut reagierte nicht mit normalen Anti-A-Seren der B-Gruppe, wohl aber mit einigen 0-Seren, dagegen mit einem Titer von 1:2 bis 1:4 mit mehreren Immunsereen der Gruppe B bei schwacher (+ bis ++) Agglutination. Diese Blutzellen verglichen wir alle bei

Anwendung von zwei Helixpräparationen aus Eiweißdrüsen von *Helix pomatia* und *Helix hortensis*. Über das Ergebnis unterrichtet die Tabelle.

Tabelle. *Reaktionen von  $A_3$ -Blutkörperchen mit Helix-Extrakten*  
(Eiweißdrüsenextrakte präpariert aus Trockenpulver von Exemplaren, die im Juli gesammelt wurden.)

Blutkörperchen	Helix pomatia- Extrakt 100 mg/ml	Helix hortensis- Extrakt 100 mg/ml
$A_1$	1:8192	1:50000
$A_2$	1:16384	1:100000
B	1:0	1:128
0	1:0	1:32
$A_3$ (Leipzig)	1:0	nicht geprüft
$A_3^w$ (Nr. 42)	1:(2)	1:64
$A_3^w$ (Nr. 43)	1:(4)	1:64
$A_3^w$ (Nr. 44)	1:(2)	1:(128)
$A_3^w$ (Nr. 45)	1:(2)	1:64
$A_3^w$ (Nr. 46)	1:(4)	1:64
$A_3^w$ (Nr. 47)	1:(2)	1:64
$A_3^w$ (Nr. 48)	1:(2)	1:64
$A_3^w$ (Nr. 49)	1:(2)	1:(64)
$A_3^w$ (Nr. 50)	1:(2)	1:64
$A_3^w$ (Nr. 51)	1:(4)	1:64
$A_3^w$ (Nr. 52)	1:(2)	1:64
$A_3^w$ (Nr. 65)	1:(2)	1:64
$A_2$ (aus der Paarung) $A_3^w \times 0$	1:4096	1:4096

### Methoden und Ergebnisse

Wie die Tabelle demonstriert, ließ sich unter Anwendung des Extraktes von *Helix hortensis*-Drüsen eindeutig nachweisen, daß es sich bei dem vorher erwähnten  $A_2$ -Muster des  $A_2$ -Trägers aus der Elternpaarung  $A_3^w \times 0$  tatsächlich um ein spezielles Muster handelt. Die Sonderreaktion dieses Blutes bestätigt erneut zu den bereits vorgebrachten Beweisen, daß es sich bei diesem „ $A_2$ “-Träger nicht um ein illegitimes Kind handelt. Das  $A_3$ -Blut (Leipzig) wurde in zwei Instituten untersucht, auch einmal mit einem *Helix pomatia*-Drüsenextrakt von einem Titer von 1:4096. Es war vollständig negativ, reagierte auch nicht nach Trypsinbehandlung. Dagegen ließen sich nach 15 min Behandlung mit Papain Reaktionen mit +, bei Ficin mit (+) und bei Bromelinvorbehandlung je nach Art des Bromelinpräparates Reaktionen mit einer Stärke von + bis +++++ (untersucht fünf Handelspräparate) erzielen.

### Diskussion

$A_3$ -Blutkörperchen (untersucht wurden 1  $A_3$ -Muster aus Leipzig und 13 aus der beschriebenen  $A_3^w$ -Sippe) reagieren mit Extrakten von Drüsen aus *Helix pomatia* entweder nicht oder nur sehr schwach. Aus der schon früher beschriebenen Tatsache, daß mit diesem Extrakt  $A_2B$ -Blutkörperchen stark angezeigt werden (annähernd wie  $A_1$  und  $A_2$ ), muß geschlossen werden, daß die in Lehrbüchern vertretene Ansicht, der A-Gehalt von  $A_2B$  und  $A_3$ -Zellen sei annähernd gleich groß, als unhaltbar angesehen werden muß, wenn man von der Voraussetzung ausgeht, daß Anti- $A_{hel}$  das für die A-Spezifität verantwortliche N-Acetyl-D-Galaktosamin erfaßt. Sollte jedoch die Struktur dieses Hexosamins etwas modifiziert sein, z. B. durch eine O-Methyl-Gruppe (s. später), dann kann die Reaktion mit Anti- $A_{hel}$  negativ ausfallen, während andere Antikörper oder Lektine mit einem größeren reaktiven Bezirk „Anti-A“ durch die Modifizierung des Hexosamins wenig gestört werden. Zumindest ist der Titer mit Anti- $A_{hel}$  offensichtlich um ein Vielfaches geringer, wobei man aber immer beachten sollte, daß Anti- $A_{hel}$  von *Helix pomatia* eben nicht Anti-A ist, sondern ein spezielles Reagens sui generis. Das wird evident, wenn man auch die Reaktionen gegenüber  $A_1$ - und  $A_2$ -Blutkörperchen untereinander vergleicht (wie schon früher gezeigt  $A_2$  etwas stärker, neuerdings von VETTER bestätigt). Interessant sind die Reaktionen des aus der  $A_3^w$ -Sippe stammenden „ $A_2$ “-Trägers besonders deutlich bei Anwendung des Drüsenextraktes von *Helix hortensis*. Mit diesem Extrakt reagierten seine Blutkörperchen auffallend schwächer als vergleichsweise getestete „normale“  $A_2$ -Blutzellen.

Die vorliegenden Ergebnisse werfen erneut die Frage nach der chemischen Natur der A-Untergruppen auf. Hier gibt es mehrere Möglichkeiten:

1. Der Unterschied ist quantitativer Natur. Ein solcher Unterschied kommt insbesondere in den sezernierten Blutgruppenmucoiden  $A_2$  zum Ausdruck: Das  $A_2$ -Gen verwandelt weniger Grundsubstanz H in A (durch Anfügen von N-Acetyl-D-Galaktosamin). Die Folge ist, daß das  $A_2$ -Mucoid wenig A- und viel H-Receptoren besitzt im Vergleich zum  $A_1$ -Mucoid (WATKINS und MORGAN, 1956/57).

2. Der Unterschied ist quantitativer und qualitativer Art. Dies würde bedeuten, daß im obigen Falle das  $A_2$ -Gen nur eine ganz bestimmte Vorstufenkohlenhydratkette H in A umwandelt, denn bekanntlich gibt es zwei Vorstufendeterminanten H, die sich durch die Bindung der nichtreduzierend gebundenen D-Galaktose an das N-Acetyl-D-Glucosamin unterscheiden ( $\beta$ -1—3- oder  $\beta$ -1—4-Bindung). Es sollte eine H-Kette übrigbleiben.

3. Ein rein qualitativer Unterschied. Solche Unterschiede müßte man, im Gegensatz zu  $A_2$ , bei den weiteren A-Untergruppen erwarten,

wie das Auftreten nicht entsprechender Isoantikörper zeigt. Hier gibt es zweierlei Möglichkeiten:

a) Eine Minusvariation, z. B. das Fehlen der N-Acetyl-Gruppe oder von L-Fucose an der A-Determinanten. Diese letzte Struktur soll jedoch ohnehin nicht in der A-Gruppierung der Blutkörperchen vorliegen. Sie reagiert jedoch schwächer mit „normalem“ Anti-A (KABAT u. Mitarb., 1966).

b) Plusvariation in Form einer zugefügten O-Methyl- oder O-Acetyl-, N-Glykoly-Gruppe an das endständige N-Acetyl-D-Galaktosamin. Eine solche Konstitution würde die fehlenden typischen Anti-A-Reaktionen dieser Untergruppen zwanglos erklären, ließe sich aber nicht ohne weiteres mit der Vorstellung vereinbaren, daß diese Untergruppen integrierter Bestandteil (Partialantigene) der Gesamtstruktur A<sub>1</sub> sind, z. B. als Teil einer Vorstufe, wie dies HUMMEL [Ärztl. Laborat. 11, 221—227 (1965)] annimmt. Sie würde jedoch die fehlende Reaktion von Anti-A<sub>hel</sub> mit A-Untergruppen, z. B. A<sub>3</sub>, verständlich machen.

4. Eine weitere Möglichkeit besteht schließlich darin, daß, jedenfalls was die cellulären A-Untergruppen anbetrifft, der Unterschied weder qualitativ noch quantitativ ist, sondern, daß durch genetische Einflüsse die Lage der Rezeptoren derart gesteuert wird, daß sich die beobachteten serologischen Phänomene durch die topographische Anordnung erklären ließen. So könnten manche dieser Reagentien besser zu den Rezeptoren vordringen als andere. Auf diese Weise kann man die Reaktion von Anti-A<sub>hel</sub> mit A<sub>2</sub>-Zellen interpretieren, aber auch das Auftreten von A<sub>2</sub> aus der Kombination von A<sub>3</sub><sup>v</sup> mit 0 sowie die verstärkte Reaktion von A<sub>3</sub> nach *Proteolyse*-Behandlung der Zellen mit Anti-A<sub>hel</sub>.

Es würde ferner die „physiologische Abschwächung“ der A-Eigenschaft bei fetalen A-Zellen verständlich machen, die „normal“ mit Anti-A<sub>hel</sub> reagieren (K. FISCHER, persönliche Mitteilung). Das Vorhandensein genetisch bedingter „Membrangruppen“ ist im Tierreich bekannt, z. B. beim Rind, wo durch verschiedene Dicke der äußeren Mucoidschicht die tieferliegenden Antigene in sehr unterschiedlicher Weise zugänglich sind (UHLENBRUCK, SEAMAN u. COOMBS, in Vorbereitung).

Eine weitgehende Aufklärung dieser Probleme bietet sich in der Isolierung blutgruppenaktiver Glykolipoide aus den verschiedenen A-Zellen an. So konnten A<sub>hel</sub>-aktive Glykolipoide bereits mit Hilfe einer einfachen, wenig Material voraussetzenden Methode aus A<sub>1</sub>-Zellen von uns isoliert und getestet werden (unveröffentlichte Versuche). Noch wichtiger, auch in diagnostischer Hinsicht, wäre eine Untersuchung *leukämischer Zellen* mit Anti-A<sub>hel</sub>, denn gerade hier entwickeln sich charakteristische A-Varianten, denen man mit diesem neuen Reagens Aufmerksamkeit schenken sollte.

### Zusammenfassung

A<sub>3</sub>-Blutkörperchen reagieren mit Extrakten von Drüsen aus *Helix pomatia* entweder nicht oder nur sehr schwach, A<sub>2</sub>-Zellen reagieren oft stärker mit Anti-A<sub>hel</sub> als A<sub>1</sub>-Zellen. Bei allen Versuchen zeigten sich geringe Unterschiede gegenüber dem Anti-A<sub>hel</sub> aus *Helix hortensis*. Abschließend werden grundsätzliche Betrachtungen zur Immunchemie der A-Untergruppen angestellt.

### Summary

An A<sub>3</sub> blood sample did not react to extracts containing anti-A<sub>hel</sub>. These extracts were produced from the protein gland of *Helix pomatia*. Other samples of the special type A<sub>3</sub><sup>w</sup> showed a stronger reaction, however. The different reactions are to be taken from the table.

### Literatur

- [1] KIM, Z., G. UHLENBRUCK, O. PROKOP u. D. SCHLESINGER: Über die B-Substanz und das Anti-A von *Helix pomatia*. Z. Immun.-Forsch. **130**, 290 (1960).
- [2] LLOYD, K. O., E. A. KABAT, and R. E. ROSENFELD: Immunochemical studies on blood groups. XXXV. The activity of fucose-containing oligosaccharides isolated from blood group A, B, and H substances by alkaline degradation. Biochemistry **5**, 1502—1507 (1966).
- [3] PROKOP, O., A. RACKWITZ, and D. SCHLESINGER: A "new" human blood group receptor A<sub>hel</sub> tested with saline extracts from *Helix hortensis* (garden snail). J. forens. Med. **12**, 108 (1965).
- [4] — — Weitere Untersuchungen mit Anti-A<sub>hel</sub> an Tierblutkörperchen. Acta biol. med. germ. **15**, 191 (1965).
- [5] — D. SCHLESINGER u. A. RACKWITZ: Über eine thermostabile „antibody like substance“ (Anti-A<sub>hel</sub>) bei *Helix pomatia* und deren Herkunft. Z. Immun.-Forsch. **129**, 402 (1965).
- [6] — A. SIMON u. A. RACKWITZ: Ein seltener schwacher A<sub>3</sub>-Rezeptor „A<sub>3</sub><sup>w</sup>“, seine Analyse, Vererbung, zugleich ein Beispiel für die mögliche Wirkung von modifizierenden Genen. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **50**, 448 (1960).
- [7] RACKWITZ, A., D. SCHLESINGER u. O. PROKOP: Über ein Blutgruppenprinzip B (Anti-A) bei *Helix hortensis*. Ein neuer menschlicher A-Rezeptor A<sub>hel</sub>. Acta biol. med. germ. **15**, 187 (1965).
- [8] UHLENBRUCK, G., Z. KIM u. O. PROKOP: A<sub>hel</sub>, ein neues Friedenreich-Antigen? Naturwissenschaften **52**, 661 (1965).
- [9] —, and O. PROKOP: An agglutinin from *Helix pomatia* which reacts with terminal N-acetyl-D-galactosamine. Vox Sang. (Basel) **11**, 519 (1966).
- [10] — — u. W. HAFERLAND: Agglutination von *E. coli* durch ein Agglutinin aus *Helix pomatia*. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. **199**, 271 (1966).
- [11] — D. O. SCHMID u. O. PROKOP: Über die Natur des A<sub>hel</sub>-Rezeptors an menschlichen und tierischen Blutkörperchen. Acta biol. med. germ. **16**, 1 (K9-12) (1966).
- [12] WATKINS, W. M., and W. T. J. MORGAN: The A and H character of the blood group substances secreted by persons belonging to group A<sub>2</sub>. Acta genet. (Basel) **6**, 521—526 (1956/57).

Prof. Dr. O. PROKOP  
 Direktor des Instituts für gerichtliche Medizin  
 der Humboldt-Universität  
 X 104 Berlin, Hannoversche Straße 6