

## Phosphogluconat-Dehydrogenase (PGD). Stichprobe aus der Berliner Bevölkerung

M. SMERLING

Institut für gerichtliche und soziale Medizin der Freien Universität Berlin (BRD)

Eingegangen am 11. Juli 1970

### Phosphogluconate-Dehydrogenase (PGD). Random Sample of the Berlin Population

*Summary.* The findings during a study of human red cell phosphogluconate dehydrogenase polymorphism in the population of West-Berlin are reported. Application of a discontinuous citrate-phosphate buffer system makes possible the combined detection of PGD- and AK-phenotypes in a single electrophoretical run. The results in the Berlin-survey supports the hypothesis of two allele genes with codominant autosomal transmission. The significance in paternity cases is discussed.

*Key-Words:* Defektvarianten — Doppelbestimmung PGD/AK — Phosphogluconat — Dehydrogenase.

*Zusammenfassung.* Es wird über die Ergebnisse bei der Bestimmung der PGD-Phänotypen an 544 nichtkorrelierten Personen, 203 Mutter-Kind-Paaren und in 151 Vaterschaftssachen berichtet.

Eine Abwandlung der Methode ermöglicht die kombinierte Bestimmung mit den AK-Typen in einem Arbeitsgang.

Die Untersuchungsergebnisse stehen in Einklang mit der Annahme eines kodominanten Erbgangs zweier alleler Gene PGD<sup>A</sup> und PGD<sup>B</sup> an autosomalem Ort.

Die Bedeutung des PGD-Systems für die Vaterschaftsbegutachtung wird diskutiert.

In dem Bemühen, die serologische Vaterschaftsanalyse durch Hinzunahme weiterer erblicher Blutgruppenfaktoren zu vervollständigen, wurden in den vergangenen 2 Jahren die Phänotypen der Phosphogluconat-Dehydrogenase (PGD) routinemäßig bestimmt.

Bevor im einzelnen auf die Erfahrungen eingegangen wird, seien kurz einige allgemeine Gesichtspunkte über dieses interessante System vorangestellt.

Das Isoenzymssystem Phosphogluconat-Dehydrogenase (PGD) wurde erstmals 1963 von Fildes und Parr [6] beschrieben. Es weist einen genetisch determinierten Polymorphismus auf, wobei von zwei allelen kodominanten Genen an autosomalem Locus die reinerbigen Typen PGD(A) und PGD(B), sowie der mischerbige Typus PGD(AB) gesteuert werden [2, 4, 10].

Daneben sind bereits zahlreiche seltene Varianten beschrieben, bei denen es sich nach den Familienuntersuchungen um heterozygote Muster seltener PGD-Gene handelt [1, 4, 7, 10].

Das Enzym 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (E. C. 1.1.1.44) nimmt im intermediären Kohlenhydratstoffwechsel eine wichtige Stellung ein; es vermittelt u. a. die Synthese von Pentosen und steht am Eingang des sog. Pentose-Phosphat-Shunts (Horecker-Cyclus [9]).

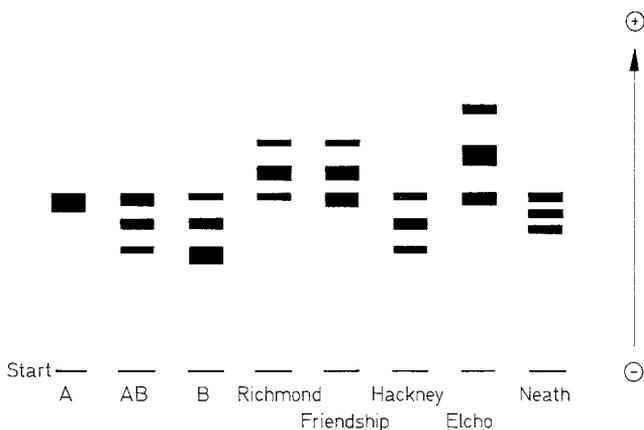


Abb. 1. PGD-Phänotypen. Die schematischen Zeichnungen wurden unter Zuhilfenahme folgender Originalarbeiten angefertigt: A, AB, B: (12), Richmond und Hackney (10), Friendship: (4), Elcho: (1). Neath: persönliche Mitteilung Parr (1970)

Das Ferment ist an den Körperzellen des Menschen nachweisbar; für Untersuchungen eignet sich besonders das Hämolysat.

Die PGD-Typen werden mittels horizontaler Stärkegelelektrophorese nachgewiesen.

In den bisher untersuchten Populationen ist die Frequenz des Gens  $PGD^B$  verhältnismäßig gering: England 0,021 (nach [10]), Kaukasier 0,024—0,039 [2, 4, 8], Australier 0,041 [1], Chinesen 0,066 [15], amerikanische Neger 0,038 [2]; lediglich bei afrikanischen Negern liegt sie mit 0,152 deutlich höher [8].

Bei quantitativen Untersuchungen sind Beobachtungen von familiär herabgesetzter Enzymaktivität gemacht worden [3, 5, 11, 13], die auf die Wirkung eines Gens  $PGD^0$  zurückgeführt werden, das aber von einem dritten, unabhängigen Genort aus wirken soll [3, 12]. Tatsächlich ist ein gemischterbigiger AB-Typ mit halber Enzymaktivität beschrieben [5].

Schließlich werden ein  $3/4$ -aktiver Typus A (= „Dalston“) durch die Wirkung eines schwachen Gens  $PGD^w$  und die vollständige Defektvariante ohne jegliche Aktivität an den Erythrocyten („Whitechapel“) als dessen homozygote Form  $PGD^w/PGD^w$  interpretiert [12].

Die „Defektvarianten“ tragen ebenso wie die seltenen qualitativen Varianten die Namen der Orte, in denen sie zuerst beobachtet wurden (Abb. 1).

Die internationale Nomenklatur im PGD-System ist nicht einheitlich. In der nachfolgenden Tabelle sind die entsprechenden Bezeichnungen einander zugeordnet (Tabelle 1).

### Material und Methoden

Zur Bestimmung der PGD-Phänotypen mittels der horizontalen Stärkegelelektrophorese wurde ursprünglich streng nach der Vorschrift von Fildes und Parr [6] gearbeitet. Die Auftrennung der AB-Typen erschien dabei nicht befriedigend, was möglicherweise von der verwendeten Stärke und den sonstigen elektrophoretischen Bedingungen abhing. Beim Experimentieren erwies sich das von

Tabelle 1. *PGD-Nomenklatur*

Parr (1966) [10]	Bowman et al. (1966), [2]	Parr u. Fitch (1967), [12]	Parr (1970) (pers. Mitt.)	Quantitative Varianten: Parr u. Fitch (1967), [12]
Usualtype	A	I	A	„Ilford“ (halbe Aktivität) „Dalston“ ( $3/4$ Aktivität)
Common variant	AB	II	CA	—
Canning variant	B	III	C	„Newham“ (halbe Aktivität) „Whitechapel“ (fully deficient)

Radam und Strauch [14] zur SEP-Bestimmung angegebene diskontinuierliche Citrat-Phosphatpuffersystem (pH = 6,0) als brauchbar, weil damit in einem Arbeitsgang gleichzeitig die AK-Typen bestimmt werden können.

Diese Abwandlung hat sich als Suchtest bewährt. Durch die Verwendung dickeren Filterpapiers als Startplättchen bilden sich die Enzymspots rascher und mehr rundlich ab, was der Beurteilung aber nicht abträglich ist.

Folgende Technik hat sich bewährt:

Gelblöcke: 22 × 11 × 0,7 cm; Biotestgel 10 g/100 ml Puffer.

Die in üblicher Weise hergestellten Hämolyse wurden mit Whatman 17 oder Schleicher & Schuell 2727 4—5 cm vom kathodischen Gelrand entfernt verimpft.

Elektrophorese: 16—17 Std 4° C; Spannungsabfall: 3,5 V/cm.

Die Auftrennung ist ausreichend, wenn die eingesunkene Front des stärksten Spannungsgefälles sich ca. 6—7 cm anodenwärts der Startlinie befindet.

Färbegemisch:

20 ml Tris-Puffer pH = 8,0,

0,2 g Agar,

1,0 Mg Cl<sub>2</sub>,

0,02 g Gluconat-6-Phosphat (Boehringer),

0,004 g NADP,

0,004 g MTT,

0,001 g Phenacimethosulfat.

Nach Überschichten stellen sich die Orte der Enzymwirkung als blauvioletter Formazan-komplex dar (15—20 min 37° C).

Es bot sich ferner die Doppelbestimmung der Adenylatkinasetypen im gleichen Arbeitsgang an.

Dazu wurden die Gelblöcke in der Weise geschnitten, daß ca. 1 cm anodenwärts der Startlinie ein 5 mm breiter Gelsteg stehenbleibt. Dieser verhindert beim Überschichten der beiden Abteilungen mit den entsprechenden Färbegemischen das Zusammenfließen (Abb. 2 und 3).

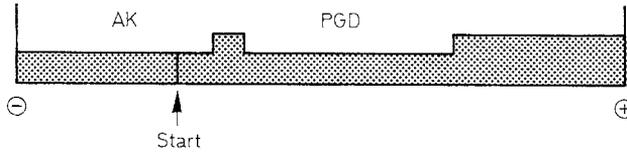


Abb. 2. Senkrechter Schnitt durch einen Stärkeblock, Vorbereitung für die kombinierte PGD- und AK-Färbung

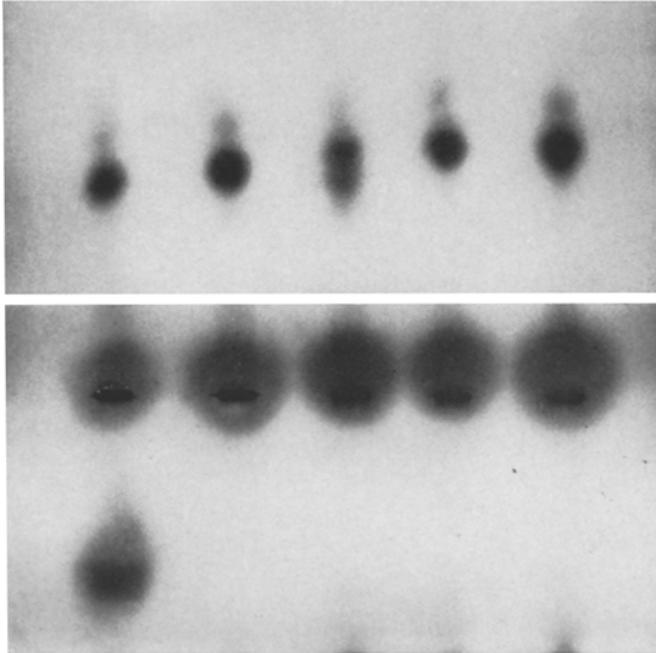


Abb. 3. Doppelbestimmung PGD und AK. Pos. 1: AK 2—1, Pos. 3: PGD (AB)

### Ergebnisse

Bei 544 unausgelesenen Personen, bei 203 Mutter-Kind-Paaren und in 151 vollständigen Vaterschaftssachen wurden die PGD-Phänotypen bestimmt.

Bei den nichtkorrelierten Personen ergab sich folgende Verteilung (Tabelle 2).

Tabelle 2. Verteilung der PGD-Phänotypen in der Berliner Stichprobe

	Beobachtet		Erwartet	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
PGD (A)	520	95,59	519,3	95,46
PGD (AB)	23	4,23	24,4	4,48
PGD (B)	1	0,18	0,3	0,06
Total	544	100,00	544,0	100,00

Genfrequenzen  $PGD^A = 0,97705$ .  
 $PGD^B = 0,02295$ .

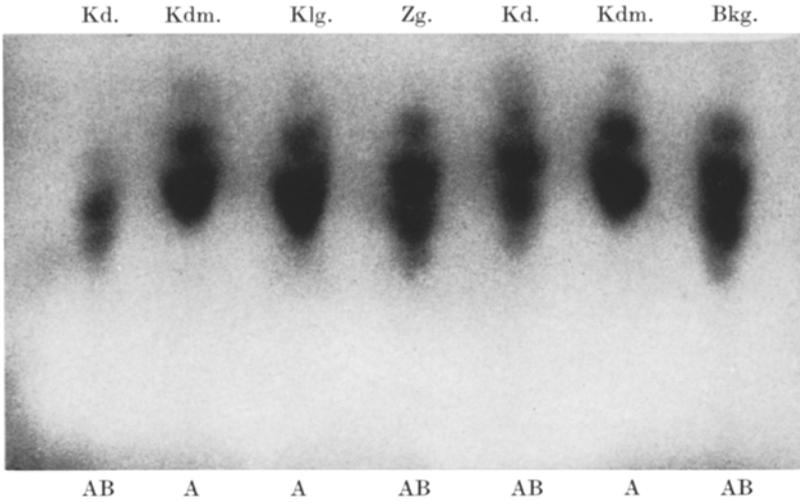


Abb. 4. Ergebnisse bei 2 Vaterschaftssachen. 1. Fall: Ausschluß des Klägers, Hinweis auf den Zeugen. 2. Fall: Hinweis

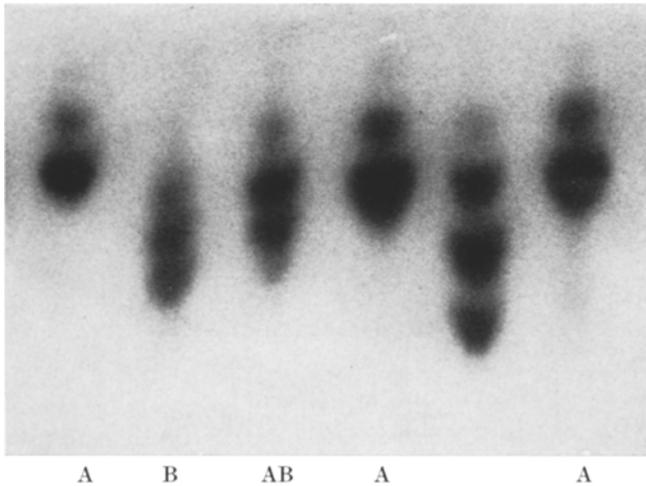


Abb. 5. Reinerbigkeitsausschluß im PGD-System: Pos. 2,3,4 = Kd., Kdm., Zg. Pos. 5 = PGD-Variante „Hackney“

Unter 151 Vaterschaftssachen fanden sich 4 Ausschlüsse über das PGD-System, darunter kein isolierter Ausschluß.

In 6 Fällen ergab sich die hinweiskräftige Kombination Kind und Präsuntivater PGD(AB), Kindesmutter PGD(A) (Abb. 4 und 5).

Bei einer Institutsangehörigen war eine Variante festzustellen, die nach Vergleich mit einer von Herrn Dr. Parr zur Verfügung gestellten Blutprobe als PGD „Hackney“ identifiziert werden konnte<sup>1</sup>. Bei der Familienuntersuchung

<sup>1</sup> Herrn Dr. C. W. Parr sei an dieser Stelle herzlich für die freundliche Unterstützung gedankt.

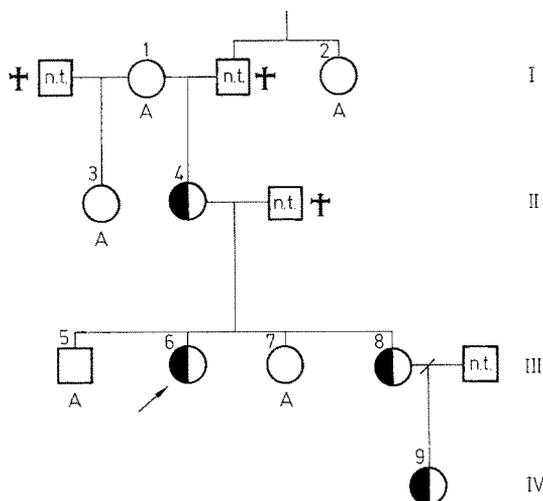


Abb. 6. Familie G., Vererbung der PGD-Variante „Hackney“. ↗ = Proposita, n. t. = nicht untersucht

fand sich die Variante in 3 Generationen noch bei 3 weiteren Personen (Abb. 6).

Die gleiche Variante war bei einem Kind aus einer Vaterschaftssache festzustellen; Kindesmutter und Beklagter gehörten zum PGD-Typus (A). Es bestand dabei noch ein weiterer Ausschluß im Rh-System. Bei den untersuchten 203 Mutter-Kind-Paaren waren 202 „kritisch“. Ausnahmen vom angenommenen Erbgang waren nicht festzustellen.

### Diskussion

Die beschriebene Methode eignet sich für die kombinierte Bestimmung der PGD- und AK-Typen und bedeutet für die in der SEP-Bestimmung eingearbeiteten Laboratorien nur einen verhältnismäßig geringen Mehraufwand an Arbeit.

Nach den Ergebnissen aus der untersuchten Stichprobe ist die Frequenz des Gens PGD<sup>B</sup> in der Berliner Bevölkerung mit 0,022 95 nur wenig höher als in England und geringer als in den übrigen bisher untersuchten Populationen.

Damit ist die für die Vaterschaftsbegutachtung anzusetzende Ausschlußerwartung für das PGD-System recht niedrig; sie errechnet sich für die Berliner Verteilung auf 2,2%.

Bei der vorliegenden Verteilung sind in einzelnen Fällen jedoch auch Hinweise auf die Vaterschaft zu erwarten, so daß insgesamt gesehen die Bedeutung des PGD-Systems für die Vaterschaftsbegutachtung doch nicht so gering einzuschätzen ist.

Bei 202 „kritischen“ Mutter-Kind-Paaren befanden sich die Ergebnisse in Übereinstimmung mit dem angenommenen Vererbungsmodus (2 allele kodominante Gene an autosomalem Ort), jedoch befand sich darunter nur eine „kritische“ Mutter-Kind-Verbindung bezüglich PGD<sup>B</sup>.

Wie das Vorkommen der PGD-Variante „Hackney“ in zwei voneinander unabhängigen Familien zeigt, muß auch in der mitteleuropäischen Bevölkerung mit seltenen PGD-Genen gerechnet werden.

Zur Aufdeckung von Defektvarianten empfehlen Parr und Fitch [11] quantitative Untersuchungen an standardisiertem Hämolysat; sie meinen aber auch, daß man herabgesetzte Enzymaktivitäten bereits aus dem Sichtbild bei der qualitativen Elektrophorese diagnostizieren könne. Quantitative Untersuchungen wurden nicht durchgeführt. Es fiel aber auf, daß besonders bei Kleinkindern, bei denen das Blut nicht durch Venenpunktion, sondern durch Einstich in die Fingerbeere gewonnen wurde, die Anfärbung der Enzymspots häufig schwächer war (vgl. Abb. 4, Pos. 1). Es erscheint somit fraglich, ob man ohne Ausschaltung anderer Faktoren durch Standardisierung des Hämolysats berechtigt ist, allein aus dem färberischen Verhalten auf eine genetisch bedingte herabgesetzte Enzymaktivität zu schließen.

### Literatur

1. Blake, N. M., Kirk, R. L.: New genetic variant of 6-phosphogluconate dehydrogenase in Australien arborigines. *Nature (Lond.)* **221**, 278 (1969).
2. Bowman, J. E., Carson, P. E., Frischer, H., Garay, A. L. de: Genetics of starch-gel electrophoretic variants of human 6-phosphogluconic dehydrogenase: population and family studies in the United States and in Mexico. *Nature (Lond.)* **210**, 811—813 (1966).
3. Brewer, G. J., Dern, R. J.: A new inherited enzymatic deficiency of human erythrocytes: 6-phosphogluconate dehydrogenase deficiency. *Amer. J. hum. Genet.* **16**, 472—476 (1964).
4. Davidson, R. G.: Electrophoretic variants of human 6-phosphogluconate dehydrogenase: population and family studies and description of a new variant. *Ann. hum. Genet.* **30**, 355—361 (1967).
5. Dern, R. J., Brewer, G. J., Tashian, R. E., Shows, T. B.: Hereditary variation of erythrocytic 6-phosphogluconate dehydrogenase. *J. Lab. clin. Med.* **67**, 255—264 (1966).
6. Fildes, R. A., Parr, C. W.: Human red-cell phosphogluconate dehydrogenase. *Nature (Lond.)* **200**, 890—891 (1963).
7. — — Various forms of human erythrocyte phosphogluconate dehydrogenase. *Proc. 6th. Intern. Congress Biochem. S.* 229 (1964).
8. Gordon, H., Keraan, M. M., Vooijs, M.: Variants of 6-phosphogluconate dehydrogenase within a community. *Nature (Lond.)* **214**, 466—467 (1967).
9. Horecker, B. L., Smyrniotis, P. Z.: *Arch. Biochem.* **29**, 232 (1950).
10. Parr, C. W.: Erythrocyte phosphogluconate dehydrogenase polymorphism. *Nature (Lond.)* **210**, 487—489 (1966).
11. — Fitch, L. J.: Hereditary partial deficiency of human-erythrocyte phosphogluconate dehydrogenase. *Biochem. J.* **93**, 28c—30c (1964).
12. — — Inherited quantitative variations of human phosphogluconate dehydrogenase. *Ann. hum. Genet.* **30**, 339—353 (1967).
13. — Parr, I. B.: Stability differences of inherited variants of human red cell phosphogluconate dehydrogenase. *Biochem. J.* **95**, 16 (1965).
14. Radam, G., Strauch, H.: Elektrophoretische Darstellung der sauren Erythrocyten-phosphatase. *Z. klin. Chem.* **4**, 234—235 (1966).
15. Shih, Ling-Yu, Yi-Yung Hsia, D., Shu-Chuang Shih, Ping-Ling Shih: The electrophoretic phenotypes of red cell 6-phosphogluconate dehydrogenase and adenylat kinase in Chinese populations. *Amer. J. hum. Genet.* **20**, 474—474 (1968).

Dr. med. Maike Smerling  
 Institut für gerichtliche und soziale Medizin  
 der Freien Universität Berlin  
 D-1000 Berlin 33  
 Hittorfstr. 18