

Zur Serologie und Genetik des Duffy-Systems

M. Smerling

Institut für Rechtsmedizin der Freien Universität
Hittorfstraße 18, D–1000 Berlin 33

Serology and Genetics of the Duffy-System

Summary. Experiences in using anti-Fy(a) and anti-Fy(b) in paternity cases are described. Seemingly incompatible mother-child-pairs are due to a silent allele also present in whites. Dosage differences are inconstant and not fit to proof a single or double gene dose. Because of the uncertainty of genetical background the use of both Fy(a) and Fy(b) in paternity cases gives no more information than does Fy(a) alone.

Zusammenfassung. Nach einer Übersicht über die gegenwärtigen Kenntnisse der Genetik im Duffy-System wird über die Erfahrungen bei der Untersuchung mit anti-Fy(a) und anti-Fy(b) berichtet. 5 scheinbare Mutter-Kind-Unstimmigkeiten unter 253 kritischen Paarungen beweisen die Existenz einer stummen Anlage. Dosisuntersuchungen sind zum einwandfreien Nachweis der Gendosis nicht zuverlässig geeignet und können isolierte Reinerbigkeitsausschlüsse nicht genügend sichern.

Bei der Unsicherheit über den genetischen Hintergrund des Duffy-Systems kommt nur dem Merkmalsausschluß über Fy(a) im Abstammungsgutachten voller Beweiswert zu; zusätzliche Fy(b)-Befunde erweitern die Information nicht. Die Gründe werden ausführlich diskutiert.

Eine Lösung des Problems kann derzeit nicht angeboten werden.

Key words. Duffy – Dosisseffekt, Duffy – Verschaftsgutachten, Beweiswert Duffy

I. Einleitung

Unter den erblichen Blutkörpercheneigenschaften, die heute im Vaterschaftsgutachten verwendet werden, gehört das Duffy-System neben Kell und S zu den ersten antigenen Eigenschaften, die nach der Rh – Ära 1939 – 1946 entdeckt wurden. Während aber jene Systeme seit geraumer Zeit ihren Platz im Blutgruppengutachten behaupten,

hat sich beim Duffy-System zunächst nur der Merkmalsausschluß über Fy(a) bewährt. Bei der zusätzlichen Untersuchung mit anti-Fy(b)-Serum ergaben sich Schwierigkeiten bei der Interpretation der Befunde, sodaß der anfängliche Optimismus mit zunehmender Erfahrung etwas gedämpft wurde. Bevor im Konkreten darauf eingegangen wird, seien einige allgemeine Daten über das Duffy-System vorangestellt.

Das im Jahre 1950 von Cutbush und Mitarbeitern [6] gefundene Anti-Serum mit neuer Spezifität wurde nach dem Träger Anti-Duffy, das damit nachweisbare Antigen Fy(a) benannt. Die aufgestellte Hypothese, daß es sich um ein Allel eines neuen erblichen Blutgruppensystems handle, wurde durch den Nachweis eines anti-Fy(b)-Serums 1951 [8] bestätigt.

Populationsgenetische und Familienuntersuchungen deckten alsbald die Existenz eines weiteren Duffy-Gens auf, welches sich aber dem direkten Nachweis entzog und nur dadurch erkennbar war, daß sich Personen fanden, deren Blut weder mit anti-Fy(a) noch mit anti-Fy(b) reagierte. Diese sogen. Minus-Minus-Phänotypen wurden als reinerbige Träger eines „stummen“ Duffy-Gens erklärt; Mutter-Kind-Unstimmigkeiten aufgrund scheinbar entgegengesetzter Reinerbigkeit ließen sich ebenfalls darauf zurückführen (heterozygote Träger). [4, 9, 14]

Die Häufigkeit der stummen Duffy-Anlage Fy wird unter Negern auf ca. 70 % [15], unter Weißen auf 1,7 % [18] bzw. 2–3 % [4] geschätzt. 1965 wiesen Chown, Lewis und Kaita [4] darauf hin, daß einige weiße Träger der „stummen“ Anlage, die primär als Fy(a+b-) erschienen, zwar mit den meisten anti-Fy(b)-Serum negativ, mit einzelnen aber schwach positiv reagierten. Sie nannten diese schwache Fy(b)-Eigenschaft Fy(x) und machten darauf aufmerksam, daß Personen mit dem Genotyp Fy^aFy^x als Fy(a+b-) verkannt werden könnten und eine phänotypische Unterscheidung der Genotypen Fy^bFy^b, Fy^bFy^x und Fy^bFy nicht möglich sei. Die Annahme, daß „stumme“ Anlagen bei Negern und Weißen einen differenten genetischen Hintergrund haben, wurde 1973 durch ein neues Anti-Serum Fy 5 untermauert. [5] Dieses Serum reagierte nämlich mit Minus-Minus-Varianten von Negern negativ, mit einem der beiden bisher bei Weißen bekannten Fy(a-b-) Blute aber positiv.

Außerdem scheint dieses Serum die angenommenen Beziehungen zwischen dem Duffy- und Rh-Locus zu bestätigen, da es mit Rh_{null}-Bluten ebenfalls keine Reaktion zeigt. Der von Schleyer 1971 [16] mitgeteilte Fall von „scheinbarem Zusammentreffen seltener Varianten in nichtverwandten Systemen“ (Rh_{null} und stummes Duffy-Gen) erscheint nun in einem anderen Licht und durch Interaktion der beiden Loci erklärbar.

Die genetische Situation am Duffy-Ort wird durch die Möglichkeit eines weiteren Allels kompliziert, bei welchem es sich um das von Sanger [15] postulierte dritte Gen Fy^c handeln könnte. Hinweise darauf ergaben sich durch ein Anti-Fy 4 [2], welche mit Fy(a-b-) - Bluten und mit einigen Fy(a+b-) bzw. Fy(a-b+) - Bluten reagiert. Schließlich wird die Existenz eines Duffy-Grundsubstanz diskutiert, gegen die sich möglicherweise ein Anti-Serum Fy 3 [1] richtet, welches mit allen Bluten außer Minus-Minus-Typen reagiert. Wenn diese Hypothese zutrifft, könnten Minus-Minus-Personen mit gewöhnlichem Duffy-Genotyp, der sich mangels Precursor phänotypisch nicht ausdrücken kann, Fy(a+b+) - Kinder haben, sofern diese den Precursor vom anderen Elternteil geerbt haben.

Die Hypothese von 2 allelen Genen an einem autosomalen Locus war somit nicht ohne Einschränkung aufrechtzuerhalten. Bei der Unsicherheit über die genetische Situation erhebt sich die Frage, ob es zweckmässig ist, im Vaterschaftsgutachten neben Fy(a) auch Fy(b) zu verwenden. Zu den Problemen, die bei der Untersuchung mit beiden Anti-Duffy-Serum auftreten können, sollen hier einige weitere Erfahrungen beigetragen werden.

II. Material und Methoden

Untersuchungen mit anti-Fy(a) und anti-Fy(b) wurden an 766 nichtverwandten deutschen Personen, in 269 vollständigen Vaterschaftssachen und an 334 Mutter-Kind-Paaren durchgeführt.

Die Routine-Untersuchungen erfolgten mit jeweils mindestens zwei verschiedenen Seren anti-Fy(a) und anti-Fy(b) im Coombstest von Hand. Bei Unklarheiten kam eine größere Anzahl von Anti-Seren zum Einsatz.

Grundsätzlich sind Anti-Duffy-Seren coombsreaktiv, jedoch kommen einzelne agglutinierende oder konglutinierende Anti-Seren vor. Zwar soll der Dosisseffekt bei einzelnen agglutinierenden anti-Fy(a)-Seren besonders gut sein, [12] doch sind anti-Fy(a)-Seren praktisch nur als inkomplette Seren auf dem Markt. Dagegen werden gelegentlich direkte anti-Fy(b)-Seren angeboten. Nach eigener Erfahrung sind aber hierbei die Reaktionen schwächer und unzuverlässiger, wobei etwaige Alterung der Probandenblute stärker ins Gewicht fällt als bei indirekten anti-Fy(b)-Seren. Schließlich gaben diese direkten anti-Fy(b)-Seren keinen brauchbaren Dosisseffekt, sodaß für die vorliegenden Untersuchungen ausschließlich indirekte Anti-Seren verwendet wurden.

Wenn auch die Problematik des Coombstests allgemein bekannt ist, soll doch noch einmal kurz darauf eingegangen werden. Es handelt sich um ein zusammengesetztes Reaktionssystem, dessen Valenzen nicht exakt überschaubar sind. Bei der Verwendung der Anti-Humanglobulin-Seren ist damit zu rechnen, daß – wenn auch nur geringfügig – unterschiedliche Reaktionsabläufe möglich sind, die in diesen Anti-Seren begründet liegen können. Beim Aufschütteln der Proben kann man auch beobachten, daß sich bei den negativen Proben das Erythrocytensediment unterschiedlich auflöst und hin und wieder kleine Klümpchen bleiben, die sich erst durch stärkeres Schütteln lösen. Es kommt dabei ganz darauf an, ob die Röhrchen nur gekippt und geschwenkt werden oder ob man sie schüttelt, und welche Ausgangsmenge verwendet wurde. Hier können also subjektive Maßstäbe interferieren, deren Ausmaß nicht exakt kalkulierbar ist, umsoweniger, als die Chargen der Antiseren ebenfalls nicht von stets gleichbleibender Qualität und Zusammensetzung sind. Bei ganz schwachen Agglutinationen ist die Frage, ob es sich um ein echtes Duffy-Antigen handelt, welches hier nachgewiesen wurde, oder ob die Reaktion als unspezifisch anzusehen ist, wohl solange nicht zu lösen, solange für die hypothetischen Duffy-Allele oder Partialantigene die entsprechenden spezifischen Antiseren nicht gefunden wurden.

Bei isolierter entgegengesetzter Reinerbigkeit zwischen Kind und Eventualvater bzw. Kindesmutter wurden Dosisuntersuchungen mittels Titrationsversuchen durchgeführt. Dazu wurden kommerzielle Anti-Seren auf einen Titer von 1:32 bis 1:64 gegen reinerbige Kontrollen eingestellt (je nach Ausgangstiter ist eine Verdünnung mit 1/4 bis 1/2 des Ausgangsvolumens physiol. NaCl erforderlich), wodurch bei einigen Anti-Seren der Dosisseffekt gegenüber dem unverdünnten Serum deutlicher wurde. Allerdings gelingt dies nicht bei allen Anti-Seren in gleicher Weise.

Als Kontrollen (Fy^aFy^a , Fy^aFy^b , Fy^bFy^b) standen Blutproben von verschiedenen Mitarbeitern jeweils frisch zur Verfügung. Da für diese Untersuchungen ausschließlich kommerzielle Anti-Seren verwendet wurden und die Untersuchungen sich über mehr als zwei Jahre erstreckten, waren die Testsysteme im Verlauf des Untersuchungszeitraumes selbstverständlich nicht identisch. Hierin liegt eine kaum umgehbare Schwierigkeit bei der Interpretation der Befunde begründet, da jeweils mit unterschiedlichen Systemen gewonnene Ergebnisse miteinander zu vergleichen waren. Eine gewisse Standardisierung wurde deshalb dadurch angestrebt, daß die Anti-Seren durch Titration gegen Testblutkörperchen eines gleichbleibenden, jeweils mehrere Personen umfassenden „Kontrollpools“ auf gleiche Titer eingestellt wurden. Es versteht sich von selbst, daß dadurch Veränderungen bei den betreffenden Kontrollpersonen und im angebotenen Anti-Serum nicht völlig ausgeschaltet werden können.

Die Bemühungen, über die Natur der Antiseren Näheres zu erfahren, stoßen bei den Herstellern leider auf Widerstände (s. Fußnote S. 133). Gleichzeitig standen jeweils mindestens vier verschiedene anti-Fy(a)- und drei bis vier anti-Fy(b)-Serum unterschiedlicher Qualität zur Verfügung, von denen sich gewöhnlich zwei, manchmal drei Chargen zur Titration eigneten. Dabei ist offensichtlich der Dosiseffekt bei Fy(b) deutlicher als bei Fy(a).

Die Ablesung der Titrationsergebnisse erfolgte grundsätzlich im Blindverfahren, sodaß eine unvoreingenommene Beurteilung gewährleistet war.

In den Fällen von scheinbaren Mutter-Kind-Unstimmigkeiten wurden die Untersuchungen an frisch entnommenen Blutproben wiederholt und Familienuntersuchungen angestrebt.

Der Verdacht auf Fy^x wurde durch Absorptionsversuche zu untermauern versucht. Probandenerthrocyten und anti-Fy(b)-Serum wurden zu gleichen Teilen für 60 min. bei 37° C inkubiert.

Zum Vergleich wurden Fy^aFy^a, Fy^aFy^b- und Fy^bFy^b-Kontrollen der gleichen Behandlung unterzogen, der Überstand nach Zentrifugieren autitriert. Als Testzellen dienten Fy(a+b+)-Erythrocyten, da diese empfindlicher als reinerbige Testblutkörperchen anzeigen.

III. Ergebnisse

Die Phänotypenverteilung in der Stichprobe aus Westberlin (n = 766) ist der Tabelle 1 zu entnehmen.

In 269 vollständigen Vaterschaftssachen ergaben sich bei 30 Fällen Ausschlüsse im Duffy-System und zwar:

4 Merkmalausschlüsse über Fy(a)

1 Merkmalausschluss über Fy(b)

25 Ausschlüsse aufgrund entgegengesetzter Homozygotie.

Davon waren die Merkmalausschlüsse und 21 der Reinerbigkeitsausschlüsse durch 1 bis 3 andere, voll beweiskräftige Ausschlüsse gesichert. 4 Reinerbigkeitsausschlüsse blieben isoliert, von denen aber einer inzwischen durch die erbbiologische Untersuchung zweifelsfrei bestätigt werden konnte. Dabei handelte es sich entweder um Gutachten, die von vornherein alle Möglichkeiten („nach dem neuesten Stand der Wissenschaft“) ausschöpfen sollten und sich deshalb auch auf „beweisschwache“ Merkmale wie Fy(b) erstreckten oder um Ergänzungen älterer Gutachten in dem gleichen Sinne.

Unter 334 Mutter-Kind-Paaren waren 253 sogen. kritische Paarungen, und unter diesen wiederum fanden sich fünf mit scheinbar entgegengesetzter Homozygotie (Reaktionsweise Fy(a+b-) / Fy(a-b+)). Bei der Anwendung eines möglichst großen Pools unterschiedlicher Anti-Duffy-Seren auf diese Problemfälle und bei den isolierten Reinerbigkeitsausschlüssen fanden sich eine Kindesmutter, der Bruder einer Kindesmutter in einem anderen der fünf Fälle und ein scheinbar ausgeschlossener Mann (isolierte entgegengesetzte Homozygotie) in einer Vaterschaftssache, die primär als Fy(a+b-) klassifiziert worden waren und mit einzelnen anti-Fy(b)-Serum unterschiedlich schwache Reaktionen gaben, während mit den meisten anti-Fy(b)-Serum keine Reaktion zu erzielen war.

Tabelle 1. Phänotypenverteilung im Duffy-System bei 766 nichtverwandten Personen aus Westberlin

	Beobachtet		Erwartet	
	n	%	n	%
Fy (a+b-)	153	19,71	151,8	19,82
Fy (a+b+)	376	49,09	378,4	49,40
Fy (a-b+)	237	30,94	235,8	30,78
Gesamt	766	100,00	766,0	100,00

Genfrequenzen: $Fy^a = 0,44515$; $Fy^b = 0,55485$

Bei zwei dieser auf Fy^x verdächtigen Blute verlief aber der Absorptionsversuch negativ, d. h. es konnte durch die Erythrocyten dieser Probanden *keine* Titerreduktion des eingesetzten anti- $Fy(b)$ -Serums erreicht werden, während eine $Fy(a+b-)$ -Kontrolle den Ausgangstiter um mindestens 3 Stufen senkte (s. Abb. 1).

Bei den Titrationsversuchen zur Dosisbestimmung war im Idealfall bei offensichtlichen Trägern einer stummen Anlage die andere, nachgewiesene Duffy-Anlage in einfacher Gendosis nachzuweisen, d. h. daß diese Blute im Titrationsversuch wie die mischerbigen Kontrollen reagierten (vgl. Abb. 2).

anti - $Fy(b)$

	1	2	4	8	16	32	64
vor Inkubation	+++	++++	+++	+++	++	+	±
nach Inkubation mit:							
„ $Fy^a Fy^{x,c}$ “	+++	+++	+++	++	+	±	-
$Fy^a Fy^a$	+++	+++	++	++	+	+	±
$Fy^a Fy^b$	+	+	±	-	-	-	-

Abb. 1. Beispielhafte Darstellung des Absorptionsversuches mit 2 auf Fy^x verdächtigen Bluten. Keine merkliche Titerreduktion nach Inkubation des Anti-Serums (Biotest 113044, 111114) mit den Probandenerythrocyten (1 : 1, 60'37° C)

	anti - Fy (a)						anti - Fy (b)					
	2	4	8	16	32	64	2	4	8	16	32	64
Fy ^a Fy	+++	++	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-
Fy ^b Fy	-	-	-	-	-	-	++	+++	++	+	-	-
Fy ^a Fy ^x	+++	++	+	±	-	-	±	+	+	±	-	-
Kontrollen:												
Fy ^a Fy ^a	++++	+++	+++	++	+	±	-	-	-	-	-	-
Fy ^b Fy ^b	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	++	+	+
Fy ^a Fy ^b	+++	++	+	±	-	-	++	+++	++	+	-	-

Abb. 2. Schematische Darstellung von Dosisuntersuchungen im Titrationsversuch: einfache Genodosis bei Trägern von Fy entsprechend mischerbiger Kontrolle. Bei vermutlichen Fy^x-Trägern kommen schwache Fy(b)-Reaktionen vor, anti-Fy(b)-Seren zeigen gelegentlich ein Zonenphänomen.

Tabelle 2. Duffy-Befunde bei sechs Vaterschaftssachen mit Ausländern

Fall Nr.	Befunde		Bemerkungen
106/73	Kd. Kdm. EV	Fy (a+b+) Fy (a+b+) Fy (a-b-)	Neger, Inv-Ausschluß
167/73	Kd. Kdm. EV	Fy (a-b+) Fy (a-b+) Fy (a-b-)	einfache Dosis Fy ^b doppelte Dosis Fy ^b Neger
94/74	Kd. Kdm. EV	Fy (a-b+) Fy (a-b-) n. t.	einfache Dosis Fy ^b negroider Mischling
109/74	Kd. Kdm. EV ₁ EV ₂	Fy (a-b+) Fy (a+b+) Fy (a-b-) Fy (a-b-)	einfache Dosis Fy ^b Neger Neger, MN-Ausschluß
111/74	Kd. Kdm. EV	Fy (a-b+) Fy (a-b+) Fy (a-b-)	keine Dosisuntersuchung Ägypter
1/75	Kd. Kdm. EV	Fy (a-b+) Fy (a+b-) Fy (a+b+)	Mischling, einfache Dosis Fy ^b Negerin Deutscher

Dies war bei 5 scheinbaren Mutter-Kind-Unstimmigkeiten aber nur dreimal der Fall, in zwei Fällen gelang der Nachweis nicht. Bei der Familienuntersuchung in einem der letzteren Fälle war die stumme Anlage durch 3 Generationen zu verfolgen, wobei weitere scheinbare Mutter-Kind-Unverträglichkeiten zwischen der Kindesmutter sowie ihrem Bruder und beider Mutter festzustellen waren (s. Abb. 3).

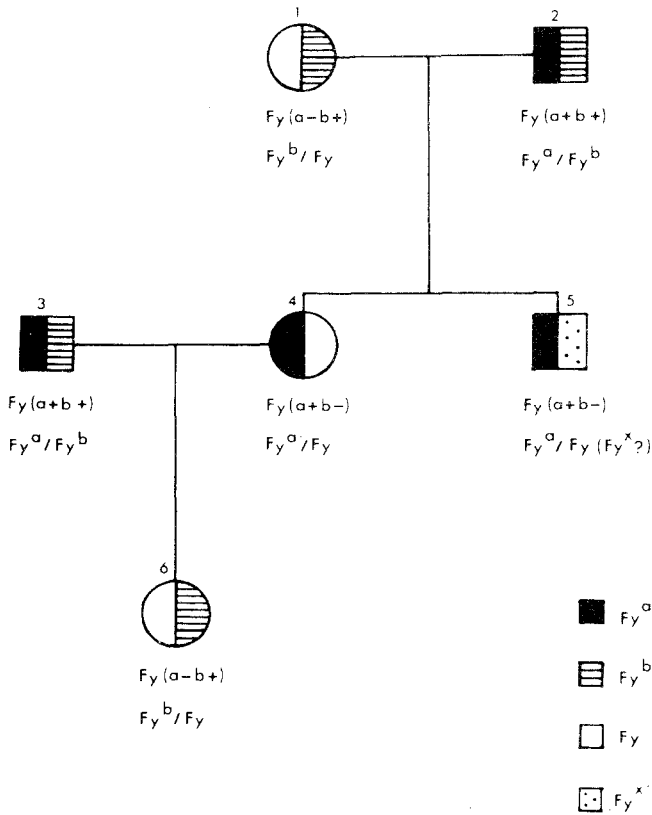


Abb. 3. Familie D.: Vererbung von F_y , welches bei II 5 wie $F_y(x)$ erscheint. (Erläuterungen s. Text)

Dabei gelang der Nachweis der einfachen Gendosis nur bei der Mutter der Kindesmutter (I, 1); die Kindesmutter selbst und das Kind reagierten wie reinerbige $F_y^a F_y^a$ bzw. $F_y^b F_y^b$ -Kontrollen. Dagegen zeigte der Bruder der Kindesmutter (II, 5), der zunächst als $F_y(a+b-)$ klassifiziert worden war, die für F_y^x typische schwache $F_y(b)$ -Reaktion mit einzelnen Anti-Seren.

In sechs Vaterschaftssachen, bei denen Ausländer beteiligt waren, ergaben sich besondere Befunde, die in der Tabelle 2 zusammengestellt sind.

IV. Diskussion

Nachdem seit einigen Jahren anti-Fy(b)-Seren kommerziell regelmäßig zur Verfügung stehen, war zunächst zu erwarten, daß durch die Erweiterung des Duffy-Systems auf ein Zwei-Allelen-System eine weitere Erhöhung der isolierten und kombinierten Ausschlusserwartung für Nichtväter einträte. Während die Ausschlußchance bei alleiniger Verwendung von Fy(a) je nach örtlichen Genfrequenzen um 5% liegt, wäre bei uneingeschränkter Anwendung eines Zwei-Allelen-Modells Fy^a / Fy^b eine solche von ca. 18% zu erwarten, eine Zahl, die das Duffy-System in die Nähe der Systeme ABO, MN, Hp, Gc, PGM und GPT rückt.

Mit zunehmender Erfahrung zeigte sich aber, daß auch bei Weißen stumme Anlagen am Duffy-Genort vorkommen, die die Rückschlußmöglichkeiten aus dem Phäno – auf den Genotyp grundsätzlich einschränken. Da nun bei der Verwendung von Fy(a) und Fy(b) der genetische Ausschluß häufiger zu berücksichtigen ist, erhebt sich die Frage, ob einem solchen Homozygotieausschluß, wenn er isoliert bleibt, ein Beweiswert zukommt oder nicht; eine Entscheidung, die durch die einfache Bestimmung der Merkmale nicht getroffen werden kann.

Ob es durch weitergehende Untersuchungen, etwa durch Dosisuntersuchungen dennoch möglich ist, die Genotypen Fy^aFy , Fy^aFy^x und Fy^bFy , Fy^bFy^x von Fy^aFy^a bzw. Fy^bFy^b zu unterscheiden, sollte anhand des vorliegenden Materials geprüft werden. Dazu wurde versucht, den Unterschied zwischen sicher reinerbigen und mischerbigen Bluten (Dosisseffekt) durch entsprechende Verdünnung der zur Titration verwendeten Anti-Seren besser herauszuarbeiten.

Systematische Untersuchungen zur Bestimmung der Gendosis bei Duffy verdanken wir Spielmann [18], auf dessen Trypsin-Antiglobulin-Technik jedoch bewußt verzichtet wurde, da einerseits von anderen Autoren [10, 20] auf die Inaktivierung der antigenen Duffy-Eigenschaften (Fy(a) und Fy(b)) durch Enzyme hingewiesen wurde und andererseits zu befürchten stand, daß durch diesen Kunstgriff schwache Reaktionen wie bei Fy(x) in ihrer Wertigkeit verschoben und durch Verstärkung oder Abschwächung der Reaktionen je nach Technik (so Spielmann) als falsch positive bzw. falsch negative Resultate verkannt würden. Charakteristischerweise fehlen nämlich in Spielmanns Mitteilung jegliche Anhaltspunkte für das Vorkommen von Fy^x in seinem umfangreichen Untersuchungsmaterial ($n = 1408$). Allerdings mußte auch in der zitierten Arbeit zugegeben werden, daß „einige Proben in den Intermediärbereich fallen oder sogar zu abweichenden Ergebnissen in beiden Versuchsansätzen führen.“ [18]

In der untersuchten Stichprobe aus Westberlin fand sich eine Phänotypenverteilung, die recht nahe an die aus Bonn mitgeteilten Frequenzen reicht [11]. In den übrigen Stichproben aus verschiedenen Gegenden Deutschlands, aus Bern, Wien und England [11, 13, 19] scheint die Genfrequenz von Fy^b etwas höher zu sein als im vorliegenden Material. Über die Frequenz von Fy oder Fy^x kann hieraus kein Schluß abgeleitet werden, da bei diesen nichtverwandten Personen keine Dosisuntersuchungen durchgeführt wurden.

Zudem hatten bereits Chown und Mitarbeiter [4] 1965 darauf hingewiesen, daß die Ergebnisse von Dosisuntersuchungen, insbesondere beim Fy^x der Weißen, nicht zuverlässig reproduzierbar seien. Die Existenz eines stummen Allels am Duffy-Genort im vorliegenden Untersuchungsmaterial in einer nicht zu vernachlässigenden Häufigkeit wird aber durch die fünf beobachteten scheinbaren Mutter-Kind-Unstimmigkei-

ten im Sinne entgegengesetzter Reinerbigkeit und durch den Minus-Minus-Phänotyp bei einer Kindesmutter, die als negrider Mischling eine stumme Anlage von der weißen Mutter geerbt haben muß (Tabelle 2, 94/74), bestätigt. In diesen Fällen, bei denen sich keine Anfallspunkte für eine Kindsvertauschung fanden, fielen die Dosisuntersuchungen unterschiedlich aus; in drei Fällen gelang der Nachweis einer einfachen Gendosis bei Mutter und Kind, in zwei Fällen aber nicht.

In besonderer Weise illustrieren die Verhältnisse bei der Familie D. die Problematik solcher Dosisuntersuchungen. Bei vier Trägern einer stummen Anlage innerhalb dieser Familie ergab sich einmal die „typische“ einfache Gendosis (II), zweimal scheinbar homozygoten Verhalten (III4, III6) und einmal eine ganz schwache Fy(b)- Reaktion entsprechend Fy^x (II5). Dabei muß betont werden, daß alle Probandenblute dieser Familie wiederholt gleichzeitig frisch zur Verfügung standen und im gleichen Testsystem untersucht wurden. Ein solch unterschiedliches Verhalten bei Fy-Trägern innerhalb einer Familie läßt den Wert solcher Dosisuntersuchungen äußerst zweifelhaft erscheinen.

In diesem Zusammenhang ist auf die starke Abhängigkeit der Duffy-Befunde vom Zustand der Blutproben hinzuweisen. Es ist ein großer Vorteil der Berliner Verhältnisse, daß die Probanden überwiegend ortsansässig sind und die Blutentnahmen nach Einbestellung vom Untersucher selbst durchgeführt werden können, wobei am Entnahmetag für eine Serie auch gleichzeitig die entsprechenden Kontrollen (aus dem Mitarbeiterstab) entnommen werden.

Dadurch ist ein vergleichbarer Zustand der Probandenblute untereinander und mit den Kontrollen sowie größtmögliche Frische der Blutproben gewährleistet. Postversand – selbst auf dem Luftpostweg – und Entnahme durch Fersenschnitt, aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen bei Kindern beeinträchtigen die Qualität der Blutprobe beträchtlich (Erschütterung? häufiger Lagewechsel? Hämolyse bei anderer Entnahmetechnik). Durch solche äußeren Einflüsse können die Duffy-Faktoren in ihrer Nachweisbarkeit soweit abgeschwächt werden, daß mit der Vortäuschung von „einfacher Gendosis“ zu rechnen und besondere Vorsicht bei der Interpretation der Ergebnisse von Titrationsversuchen geboten ist.

Aber selbst wenn optimale Versuchsbedingungen – wie bei der erwähnten Familienuntersuchung – vorliegen, kann der unterschiedliche Ausfall des Titrationsversuches erhebliche Schwierigkeiten bei der Deutung der Befunde bereiten. Vom theoretischen Standpunkt ist es nicht ohne weiteres einzusehen, warum bei einfacher Gendosis der Dosisversuch in dem einen Fall entsprechend ausfällt und im anderen Fall nicht, und zwar innerhalb einer Familie, in der durch entgegengesetzte Reinerbigkeit die Irregularität auf der Hand liegt. Aus dem Schrifttum ergibt sich dazu keine klare Auskunft, möglicherweise bestehen Zusammenhänge mit einer individuell unterschiedlich starken Ausprägung der Duffy-Antigene, welche u. a. auch vom Alter des Probanden abhängig sein soll [12].

Der Vorschlag Spielmanns [18], eine Blutprobe im Mehrfachansatz solange zu untersuchen, bis sie sicher der Kategorie „einfache“ oder „doppelte“ Gendosis zuzuordnen ist, und die Ergebnisse der Titrationsversuche statistisch auszuwerten (eine im Hinblick auf den Arbeitsaufwand hoch anzuerkennende Bemühung) kann keine Lösung für die schwierige Problematik sein; vor allem deshalb nicht, weil im Einzelfall von einer Blutprobe nicht beliebig viele Untersuchungen durchgeführt werden können, ohne daß sich die Bedingungen von Mal zu Mal geringfügig ändern. Abgesehen davon,

daß bei einer so diffizilen Methode die Frage, ob nun der 1., 2. oder n. Ansatz das richtige Ergebnis liefert, nicht zu beantworten ist, würde das strenge Einordnen in ein Schema (einfache bzw. doppelte Gendosis) keinen Raum lassen für die bereits erwähnte individuell verschieden starke Ausprägung der Duffy-Faktoren oder für Abschwächungen der nachweisbaren Duffy-Substanz durch äußere Einflüsse auf die Blutprobe (z. B. Alterung); vor allem aber auch nicht für genetisch bedingte Varianten.

Die Tatsache, daß der sogen. Dosisseffekt nicht allein durch die genetische Situation bedingt zu sein scheint und offensichtlich mit anderen variierenden Einflüssen gerechnet werden muß, die sich praktisch niemals völlig ausschalten lassen, daß grundsätzlich auch keine Unterscheidung möglich ist, welche Bedingung im konkreten Fall für die Menge der nachgewiesenen antigenen Substanz verantwortlich ist, stehen der allgemeinen Anwendung des zitierten Verfahrens in der Praxis entgegen. Der Wert einer statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse soll dabei nicht verkannt werden, jedoch wird dadurch ein möglicher systematischer Fehler nicht erfaßt. Im praktischen Einzelfall wird man sich daher auf den Dosisversuch mit ein bis zwei verschiedenen Antiseren (deren Brauchbarkeit zur Titration selbstverständlich an zahlreichen Kontrollen zu prüfen ist) beschränken müssen.

Schließlich war auch die Frage, ob es sich bei Probanden, die zunächst als $Fy(a+b-)$ erschienen, dann aber mit einzelnen anti- $Fy(b)$ -Seren schwache Reaktionen zeigten, tatsächlich um $Fy(x)$ handelt, durch Absorptionsversuche nicht zu klären. Jedenfalls blieb bei 2 der 3 Personen (ein Proband stand zur Nachuntersuchung nicht zur Verfügung) die erwartete Bindung von anti- $Fy(b)$ wie sie Chown (4) für $Fy(x)$ beschreibt, aus. Da es sich bei diesen beiden Personen nach der Familienuntersuchung aber um Träger einer stummen Anlage handelt, muß konstatiert werden, daß wir mit den uns zur Verfügung stehenden Mitteln zwischen Fy und Fy^x nicht differenzieren können, sofern es sich dabei überhaupt um genetisch grundsätzlich unterschiedliche Informationen handelt. In Verbindung mit dem zweifelhaften Wert von Dosisuntersuchungen zur Erkennung stummer Varianten ergibt sich daraus, daß die Genotypen Fy^aFy^a , Fy^aFy^x , Fy^aFy einerseits und Fy^bFy^b , Fy^bFy^x , Fy^bFy andererseits nicht zuverlässig voneinander unterschieden werden können. Man wird beim Titrationsversuch das Ausbleiben einer Reaktion im Sinne der einfachen Gendosis auch nicht dahin deuten dürfen, daß eine stumme Anlage nicht vorliegt und die andere nachgewiesene Duffy-Anlage reinerbig, d. h. in zweifacher Gendosis vorhanden sei. Ein Rückschluß aus der phänotypischen Reaktionsweise auf die genetische Situation ist somit nicht sicher möglich. Dies betrifft in extremis auch den Phänotyp $Fy(a-b-)$, wenn man als Ursache die Möglichkeit der Suppression oder des Precursormangels [1] in Betracht zieht, hinter welchem sich „normale“ Genotypen verbergen können. Sicher erscheint eigentlich nur, daß dem Phänotyp $Fy(a+b+)$ der Genotyp Fy^aFy^b entspricht.

Für die Vaterschaftsbegutachtung ergeben sich unter diesen Bedingungen nun folgende Überlegungen zur Ausschlußmöglichkeit:

a. Kind	a+ b+
Kindesmutter	a- b+
EV	a- b+

Faktorenausschluß über $Fy(a)$, sogen. klassischer Ausschluß, keine bekannte Störmöglichkeit, voller Beweiswert (BGA 1968).

- b. Kind a+ b+
- Kindesmutter a+ b-
- EV a+ b-

Faktorenausschluß über Fy(b).

Die Möglichkeit, daß bei einem der Elternteile und dem Kind ein nicht erkanntes Fy^X vorliegt, welches beim Kind (z. B. wegen stärkerer Ausprägung, unterschiedlichem Testsystem, besserem Zustand der Blutprobe etc.) als Fy(b+) erscheint, während der Elter als Fy(b-) klassifiziert wird, schränkt den Beweiswert ein.

- c. Kind a+ b- (a- b+)
- Kindesmutter a+ b+
- EV a- b+ (a+ b-)

Reinerbigkeitsausschluß.

Stumme Anlagen (Fy, Fy^X) können auch durch Dosisuntersuchung nicht sicher ausgeschlossen werden; eingeschränkter Beweiswert.

- d. Kind a- b+
- Kindesmutter a+ b-
- EV a+ b-

scheinbare Mutter-Kind-Unstimmigkeit, Reinerbigkeitsausschluß. Es besteht die theoretische Möglichkeit, daß alle drei Personen Fy^X-Träger sind, wobei das Kind als homozygotes Fy^XFy^X aufzufassen wäre, welches phänotypisch als Fy(a-b+) erscheinen kann, da Fy^X geringe Mengen Fy(b) produziert (s. Abb. 4):

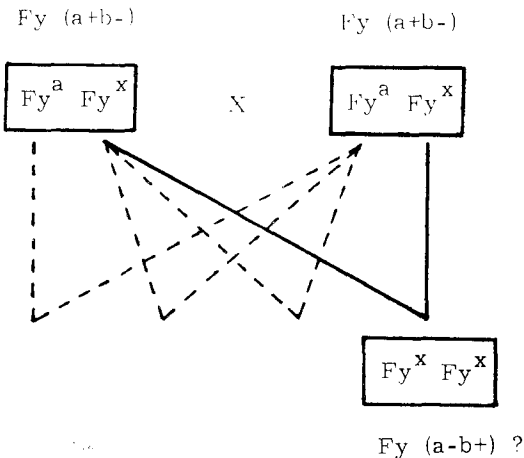


Abb. 4. Bildhafte Darstellung der Möglichkeit, daß Fy(a+b-)Eltern Fy(a-b+)Kinder haben können, sofern beide Träger von Fy^X sind und dieses auch vererben (s. Text)

Tatsächlich ist ein Fall von Fy^XFy^X aus Nordschweden beschrieben, der phänotypisch Fy(a-b+) reagierte (3).

- e. Kind a+ b+
- Kindesmutter a+ b-, a+ b+, a- b+
- EV a- b-

„zweifacher“ Faktorenausschluß.

Der Minus-Minus-Phänotyp beim Eventualvater könnte theoretisch durch Precursor-mangel bedingt sein, wobei er aber einen „normalen“ Genotyp besitzt, von dem er eine Anlage vererbt. Wenn das Kind von der Mutter die Grundsubstanz erbt, kann sich die väterliche Anlage phänotypisch ausdragen (vergleichbar den Verhältnissen im ABO-System: Bombay-Typen).

Wenn auch die Erwartung für die Möglichkeiten d und e außerordentlich gering ist, so können sie bei den Überlegungen zum Beweiswert des Duffy-System doch nicht ganz außer acht gelassen werden. Immerhin kommen bei der Durchmischung der Bevölkerung nicht ganz selten Negride als Beteiligte in Vaterschaftssachen vor. So fand sich in unserem Untersuchungsmaterial ein Fall mit der Konstellation e, (Tabelle 2, 106/73) die allerdings durch einen Inv-Ausschluß gesichert war.

Die Möglichkeiten b und c wird man dagegen häufiger antreffen, vor allem die Konstellation c (Homozygotieausschluß). Die Unsicherheit, die diesen Ausschlußformen anhaftet, hängt von der Häufigkeit der stummen Anlagen ab. Bei einer geschätzten Frequenz von 2–3% kann man diese Fehlermöglichkeit nicht unbeachtet lassen, obwohl ganz klar ist, daß man sich um ein Vielfaches häufiger irren würde, wenn man isolierte Duffy-Reinerbigkeitsausschlüsse vernachlässigen würde, als wenn man ihnen generell vollen Beweiswert zumessen wollte.

Im konkreten Fall sollten deshalb isolierte Ausschlußkonstellationen der Formen b und c durch eine zusätzliche Methode, die mit anderen Informationen arbeitet, überprüft werden (HL-A, Erbbiologie). Solche zusätzliche Untersuchungen sind zudem geeignet, wertvolle Hinweise auf die Häufigkeit der stummen Anlagen (durch Bestätigung oder „Aufhebung“ eines schwachen Duffy-Ausschlusses) zu liefern.

Betrachtet man endlich noch die Informationen, die das Duffy-System für die biostatistische Auswertung zu bieten vermag, so ergeben sich durch die Einbeziehung von Fy(b) keine grundlegenden Verbesserungen. Nach Hummel [7] nimmt der Nutzeffekt des Duffy-Systems für die Ermittlung der positiven Vaterschaftswahrscheinlichkeit bei Einbeziehung von Fy(b) gegenüber der alleinigen Verwertung der Fy(a)-Befunde sogar ab. Andererseits bietet die biostatistische Auswertung auch dann keinen Ausweg aus der Unsicherheit bei der Beurteilung, wenn man der Existenz eines stummen Gens durch Anwendung neuer Tabellen Rechnung trägt. Im Fall eines isolierten Reinerbigkeitsausschlusses wird dabei eine niedrige Wahrscheinlichkeit resultieren, [19] die nicht mehr aussagen kann, als etwa der isolierte Reinerbigkeitsausschluß selbst; man wird Zweifel an der Vaterschaft des betreffenden Mannes haben, ohne dem Ausschluß im rechtlichen Sinne vollen Beweiswert zubilligen zu können.

Die von einigen Gutachtern geübte Praxis, in solchen Fällen durch biostatistische Auswertung der Nichtausschlußsysteme die „Richtigkeit“ oder „Unrichtigkeit“ des beweisschwachen Ausschlusses zu prüfen, hat nach eigener Auffassung überhaupt nur in den extrem seltenen Fällen einen Wert, in denen neben dem fraglichen Ausschluß ein W-Wert von über 99,73% erreicht wird. Jedenfalls spricht die Erfahrung an zusätzlich anthropologisch überprüften Nichtvätern, bei denen in einem Fall eine solche „Bilanzierung“ der Nichtausschlußsysteme (unter Nichtberücksichtigung eines „schwachen“ Ausschlusses) $W = 99,71\%$ ergab, gegen die Brauchbarkeit der Methode (17). Andererseits kann der Hinweiswert in positiver Richtung, der in dem gemeinsamen Vorkommen einer stummen Anlage bei Kind und Eventualvater liegt, biostatistisch ebenfalls nicht ausgeschöpft werden, weil das den einwandfreien serologischen Nachweis dieser stummen Anlage zur Voraussetzung hat; eine Bedingung, die derzeit

offensichtlich nicht erfüllt werden kann.

Man könnte versucht sein, Vergleiche mit anderen Blutgruppensystemen anzustellen, da ja solche Probleme grundsätzlich in allen Systemen bekannt sind. Dabei bietet sich insbesondere das MNSs-System an.¹

Zwar muß man hier den Einwand gelten lassen, daß bei MNSs die Zahl der bekannten Varianten viel größer, die Häufigkeit der einzelnen Varianten aber sehr viel niedriger ist als bei Duffy, wo die „stummen“ Anlagen auch bei Weißen in einem nicht zu vernachlässigendem Umfang vorkommen. Dennoch sind gewisse Parallelen nicht zu verkennen. So sind die Varianten S^u , S_2 und M^k nur dadurch zu erfassen, daß sie mit den meisten oder allen Anti-Seren nicht reagieren; schwache Eigenschaften (M^c , M^v , M_1 , N_2) geben mit den entsprechenden Anti-Seren quantitativ unterschiedliche Reaktionen, etwa dem $Fy(x)$ vergleichbar. Andererseits sind aber die seltenen Anlagen im MNSs-System z. T. durch spezifische Anti-Seren (M^g , M^k), z. T. durch Feststellung der sogen. Satellitenantigene direkt nachweisbar. Schließlich sind die Dosisunterschiede bei MN viel eindeutiger herauszuarbeiten als bei Duffy, was möglicherweise auf die Herkunft der Anti-Seren (Kaninchen, Phyttagglutinine) und deren direkte Reaktionsweise zurückgeht [12].

Im gegenwärtigen Zeitpunkt ist es schwierig, ein brauchbares Denkmodell anzubieten, das alle Unklarheiten und Unsicherheiten umfassend berücksichtigt. Die hier mitgeteilten Erfahrungen haben gezeigt, daß die gegenwärtig in der Praxis verbreitete Bestimmung von $Fy(b)$ neben $Fy(a)$ nicht in allen Fälle mit der qualitativen Aussage „positiv“ oder „negativ“ ihren Abschluß finden kann. Bei dem Versuch, die genetische Situation zu berücksichtigen, ergeben sich quantitative Probleme, die offensichtlich auch durch Dosisuntersuchungen nicht zuverlässig gelöst werden können. Als mögliche Auswege bieten sich in problematischen Fällen HL-A-, erbbiologische und Familienuntersuchungen an, wobei letzterer Weg aber auch nicht immer beschritten werden kann.

Es bleibt also abzuwarten, ob die zukünftige Entwicklung neue Aspekte für das Duffy-System bringen wird; insbesondere darf man gespannt sein, ob neue Anti-Duffy-Seren gefunden werden, die entweder weitere Allele oder Partialantigene erfassen und eine qualitative Unterscheidung der jetzt nur quantitativen Differenzen gestatten könnten.²

¹ Ein Vergleich mit den Systemen Kidd und Lutheran, die zu Duffy grössere Ähnlichkeiten bieten, dürfte sich bei dem gegenwärtigen Stand der Kenntnisse über dies Systeme noch nicht lohnen.

² Da solche Anti-Seren gewöhnlich selten sind, werden sie – ebenso wie bei MNSs – für die Routinearbeit wahrscheinlich zunächst keine Bedeutung erlangen. Überhaupt besteht ja ein nicht zu unterschätzendes Problem darin, daß dem Untersucher über die Herkunft und Zusammensetzung der kommerziellen Anti-Seren zu wenig bekannt ist und daß es sich nicht immer um Seren handelt, die von einem einzelnen Spender stammen. Über die seit langem von den „Verbrauchern“ angestrebte Deklaration der Antiseren konnte mit den Herstellerfirmen bisher keine Einigung erzielt werden. So hatte die Arbeitsgemeinschaft gerichtlicher Blutgruppensachverständiger bereits 1968 angeregt, auf den Serumpackungen z. B. Herkunft (Immunisierung nach Transfusionen oder Schwangerschaften, gekürzter Name und ABO-Gruppe des Spenders), Entnahmedatum, Vorbehandlung (Absorptionen, Inaktivierung, Zusätze) zu vermerken und bei nicht monospezifischen Seren auch anzugeben, welche Begleitantikörper entfernt wurden.

Es könnte auch zu erwarten sein, daß durch weitgehende Automatisierung des Coombsvorganges einer der Unsicherheitsfaktoren bei den Dosisuntersuchungen eingeschränkt wird, der in der nie ganz gleichmäßigen Arbeitsweise bei manueller Technik liegt. Ein solches Programm soll demnächst in Angriff genommen werden. Bis zur Erarbeitung eines genügend großen Vergleichsmaterials wird einige Zeit erforderlich sein. Auf die dann zu veröffentlichenden Ergebnisse darf jetzt schon hingewiesen werden.

V. Schlußfolgerungen

1. Beim Duffy-System handelt es sich zweifellos nicht um ein einfaches Zwei-Allelen-System. Es ist mit weiteren Allelen (Fy^c) und stummen Anlagen (Fy , Fy^x) zu rechnen.
2. Stumme Anlagen bei Negern und Weißen scheinen nicht identisch zu sein. Die Nachweisbarkeit des Allels Fy^x bei Weißen ist schlecht reproduzierbar; es kann teils „stumm“, teils wie ein schwaches $Fy(b)$ reagieren.
3. Die negative Reaktion mit dem einen Anti-Serum (z. B. anti- $Fy(a)$) weist nicht zwangsläufig auf Reinerbigkeit des anderen Gens (z. B. Fy^b) hin.
4. Der Nachweis einer stummen Anlage gelingt gelegentlich durch Dosisuntersuchung mit geeigneten Anti-Seren. Ist eine „einfache“ Gendosis nicht nachzuweisen, so schließt das eine stumme Anlage keineswegs aus.
5. Bei der Vaterschaftsbegutachtung kommt bisher nur dem klassischen Ausschuß über $Fy(a)$ voller Beweiswert zu. Alle anderen isolierten Formen von Erbunverträglichkeit (entgegengesetzte Homozygotie, Merkmalsausschuß $Fy(b)$) sollten sehr vorsichtig formuliert und tunlichst durch eine andere Methode überprüft werden.
6. In solchen Problemfällen stellen weder umfangreiche Titrationsversuche noch biostatistische Kunstgriffe einen praktikablen Ausweg dar. Es bleibt abzuwarten, ob die zukünftige Entwicklung eine Überwindung der Schwierigkeiten, die sich gegenwärtig als quantitatives Problem darstellen, bringen wird.

Literatur

1. Albrey, J. A., Vincent, E. E. R., Hutchinson, J., Marsh, W. L., Allen jr. F. J., Gavin, J., Sanger, R.: A new antibody, Anti- $Fy 3$, in the Duffy blood-group system. *Vox. Sang.* **20**, 29–35 (1971)
2. Behzad, O., Lee, C. L., Gavin, J., Marsh, W. L.: A new antibody in the Duffy-System: Anti- $Fy 4$. *Vox. Sang.* **24**, 337–342 (1973)
3. Cedergren, B., Giles, C. M.: An $Fy^x Fy^x$ Individual found in Northern Sweden. *Vox. Sang.* **24**, 264–266 (1973)
4. Chown, B., Lewis, M., Kaita, H.: The Duffy blood group system in Caucasians: evidence for a new allele. *Amer. J. hum. Genet.* **17**, 384–389 (1965)
5. Colledge, K. I., Pezzulich, M., Marsh, W. L.: Anti- $Fy 5$, an antibody disclosing a probable association between the Rhesus and Duffy blood group genes. *Vox. Sang.* **24**, 193–199 (1973)

6. Cutbush, M., Mollison, P. L., Parkin, D. M.: A new human blood group. *Nature (Lond.)* 165, 188–189 (1950)
7. Hummel, K.: Objektivierung des biostatistischen Nutzeffektes von Blutgruppensystemen bei der Abstammungsbegutachtung. 54. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Frankfurt 1975
8. Ikin, E. W., Mourant, A. E., Pettenkofer, H. J., Blumenthal, G.: Discovery of the expected haemagglutinin Anti-Fy^b. *Nature (Lond.)* 168, 1077–1078 (1951)
9. Jungklaas, F. K.: Drei Generationen mit stummem Duffy-Gen. 6. Internationale Tagung der Gesellschaft für forensische Blutgruppenkunde, Innsbruck 1975
10. Morton, J. A., Pickles, M. M.: The proteolytic enzyme test for detecting incomplete antibodies. *J. Clin. Path.* 4, 189 (1951)
11. Mueller, B.: *Gerichtliche Medizin*. S. 1240, Berlin–Heidelberg–New York: Springer 1975
12. Race, R. R., Sanger, R.: *Blood groups in man*. p. 343, Oxford and Edinburgh: Blackwell Scientific Publications 1968
13. Ritter, H.: Zur formalen Genetik des Duffy-Systems. *Humangenetik* 4, 59–61 (1967)
14. Rittner, Ch.: Persönliche Mitteilung
15. Sanger, R., Race, R. R., Jack, J.: The Duffy blood group of New York Negroes: the phenotype Fy(a–b–). *Brit. J. Haemat.* 1, 370–374 (1955)
16. Schleyer, F., Spielmann, W., Oepen, I.: Kombination von Rh-Deletionstyp und stummem Gy-Gen. *Beitr. gerichtl. Med.* 30, 389–393 (1973)
17. Smerling, M., Krauland, W.: Besondere biostatistische Befunde bei anthropologisch festgestellten Nichtvätern. (In Vorbereitung)
18. Spielmann, W., Schilling, L., Teixidor, D.: Genfrequenzen und Vererbung im Duffy-System. *Humangenetik* 6, 200–206 (1968)
19. Sordo, G., Pisoni, C.: Das System Duffy-Genfrequenzen und Familienuntersuchung. *Blut* 24, 89–93 (1972)
20. Unger, L. J., Katz, L.: The effect of trypsin on the Duffy-factor. *J. Lab. Clin. Med.* 38, 188 (1951)

Eingegangen am 29. November 1975