

Biostatistische Auswertung von HLA-A,B-Befunden in Fällen mit Verdacht auf Rekombination

N. Fukshansky und K. Hummel

Institut für Blutgruppenserologie der Universität Freiburg, Hermann-Herder-Strasse 11, D-7800 Freiburg, Bundesrepublik Deutschland

Biostatistical Evaluation of HLA-A,B Findings in Cases Where a Recombinant Gamete is Likely

Summary. In a given case with two or more siblings the bloodgroup findings may yield a high plausibility of paternity for the alleged father of the children whilst the HLA-A,B characteristics may exhibit an exclusion of fatherhood of one or other of the siblings. But this “exclusion” may disappear assuming an HLA-A,B recombination of a father’s (or mother’s) gamete. In such cases simple calculations (i.e., by hand) can provide the serostatistical characteristic $L = Y/X$ (after Essen-Möller) for the given HLA-A,B constellation. In two-child cases with HLA-A,B findings for the putative father, the two pedigrees for the counterhypothesis Y are Y_{g1} and Y_{g2} . The one holds for the case where the putative father is the father of child 1 and the other for the case where he is the father of child 2; in each case an unknown man is the father of the other child. The likelihood ratio is calculated as follows: $L = Y/X = 1/r \cdot p(3,3) \cdot p(3,4) \cdot [p(4,4) + p(4,3)] / [p(3,3) \cdot p(4,4) + p(3,4) \cdot p(4,3)]$, where $p(3,3)$ and $p(4,4)$ are the frequencies of the putative father’s HLA-A,B haplotypes in the pedigree Y_{H1} , $p(3,4)$ and $p(4,3)$ those in pedigree Y_{H2} , and where r is the recombination rate. In three-child cases and others in which the putative father is deceased and HLA results from legitimate children or siblings are available, and in which fatherhood is only possible if a recombinant haplotype interferes, only *one* counter-hypothesis exists. In these cases, the likelihood ratio is represented by $L = Y/X = 2/r \cdot p(H_R) \cdot 2^I$, where $p(H_R)$ means the frequency of the recombinant HLA-A,B haplotype, r the recombination rate and $I(0, 1 \text{ or } 2)$ the “difference in determined types.”

Key words: HLA-A,B expertise – Disputed fatherhood – HLA-A,B recombination – Serostatistics – Probability of paternity

Zusammenfassung. Ist der angebliche Vater von 2 und mehr Kindern nicht durch übliche Blutgruppenbefunde, wohl aber im HLA-A,B-System als Erzeuger von einem der Geschwister auszuschließen, so kann dies an der Existenz eines auf den Loci A und B rekombinanten väterlichen HLA-A,B-Haplotyps bei einem der Kinder liegen. In solchen Fällen gelangt man, wie in der Arbeit gezeigt wird, auf einfache Weise, d. h. von Hand, zu einer für die gegebene HLA-A,B-Konstellation gültigen serostatistischen Kenngröße $L = Y/X$ (i. S. Essen-Möllers). In *Zweikindfällen mit HLA-A,B-Befunden des Putativvaters* gibt es zwei *Gegenhypothesen* (H_{Y1} und H_{Y2}) mit Stammbäumen Y_{H1} und Y_{H2} . Die eine gilt für den Fall, daß der Putativvater der Erzeuger von Kind 1 ist, die andere für den Fall, daß er der Erzeuger von Kind 2 ist; jeweils ein Unbekannter ist dann der Vater des anderen Kindes. Der Likelihoodquotient errechnet sich wie folgt: $L = Y/X = 1/r \cdot p(3,3) \cdot p(3,4) \cdot [p(4,4) + p(4,3)] / [p(3,3) \cdot p(4,4) + p(3,4) \cdot p(4,3)]$. Dabei sind $p(3,3)$ und $p(4,4)$ die Häufigkeiten der HLA-A,B-Haplotypen des Putativvaters in Stammbaum Y_{H1} , $p(3,4)$ und $p(4,3)$ die in Stammbaum Y_{H2} ; r ist die Rekombinationsrate. In *drei und mehr-Kind-Fällen* sowie all jenen, bei denen der vermutete Erzeuger verstorben ist, statt seiner aber HLA-A,B-Befunde von 2 oder mehr ehelichen *Geschwistern* zur Verfügung stehen, gibt es nur *eine* Gegenhypothese Y_H . Für den Likelihoodquotienten dieser Fälle gilt $L = Y/X = 2/r \cdot p(H_R) \cdot 2^I$, wobei $p(H_R)$ die Häufigkeit des rekombinanten HLA-A,B-Haplotyps, r die Rekombinationsrate und $I(0, 1 \text{ oder } 2)$ die sog. „Definitions-differenz“ ist und eine Erzeugerschaft nur möglich ist, wenn ein rekombinanter Haplotyp interferiert.

Schlüsselwörter: Vaterschaftsbegutachtung – HLA-A,B-System, Vaterschaftsbegutachtung – HLA-A,B-Rekombination – Serostatistik – Vaterschaftswahrscheinlichkeit

Einleitung

Bei rd. 1% männlicher bzw. weiblicher Gameten ist mit einer rekombinanten Anordnung der Erbanlagen der HLA-Loci A und B zu rechnen (Belvedere et al. 1975). Diese HLA-A,B-Rekombinationsrate kann bei biostatistischer Auswertung von Fällen strittiger Vaterschaft durch ein bestimmtes Computerprogramm berücksichtigt werden (Conradt et al. 1981). Das derzeitige Programm bewältigt allerdings nur übliche Terzetenfälle. Wenn man bei diesen die Rekombinationsrate berücksichtigt, ändert sich bei einigen wenigen der W-Wert so weit, daß auch einmal eine Prädikatsgrenze über- oder (seltener) unterschritten wird (Ruthenberg 1986). Bei den meisten Fällen hingegen wirkt sich die berücksichtigte Rekombinationsrate im W-Wert praktisch nicht aus. So kann auch hingenommen werden, daß es bislang in komplizierteren als den normalen Terzetenfällen *nicht* möglich ist, die bei den Gameten jeder beteiligten Person wirksam werdende HLA-A,B-Rekombinationsrate zu berücksichtigen.

In einigen von diesen jedoch spielt die Rekombination eine solche Rolle, daß eine biostatistische Auswertung ohne deren Berücksichtigung nicht mög-

lich ist. Es handelt sich um Mehrkind- und Defizienz-Fälle mit Beteiligung mehrerer Geschwister, bei denen *ohne* Mitwirkung einer HLA-A,B-Rekombination der Putativvater (PV) zu wenigstens einem der Kinder *auszuschließen* ist.

Aufgabenstellung

Durch die vorliegende Arbeit ist beabsichtigt, dem Sachverständigen zu ermöglichen, in Mehrkind- und Defizienz-Fällen mit Ausschluß im HLA-A,B-System auf einfache Weise zu einem Y/X-Wert zu gelangen, wenn der Ausschluß durch Annahme einer *Rekombination* *hinfällig* wird. Dabei werden sowohl Fälle mit Befund des PV wie solche *ohne* diesen behandelt.

Methode

Man betrachtet zwei Hypothesen: eine Hypothese X, die für „Verwandtschaft“ steht und eine Hypothese Y für „Nichtverwandtschaft“. Den beiden Hypothesen läßt sich jeweils ein „Stammbaum“ zuordnen.

An dieser Stelle sei kurz auf das Thema „*zusammengesetzte Stammbäume*“ eingegangen. Man kann 3 Typen unterscheiden:

1. Zusammensetzung eines X- oder Y-Stammbaums aus zwei (oder mehr) *Teilstammbäumen* X_{T1} , X_{T2} ; Y_{T1} , Y_{T2} . Dabei kann ein Teilstammbaum aus nur *einer* Person bestehen. Die Teilstammbäume gehören, zusammengenommen, zu *einer* Hypothese: ihre Häufigkeiten werden miteinander *multipliziert*, z. B.

$$f(Y) = f(Y_{T1}) f(Y_{T2}).$$

2. Zusammensetzung eines Stammbaums X oder Y aus mehreren *genotypisch verschiedenen*, aber phänotypisch übereinstimmenden *Stammbäumen*. Dies ist regelmäßig dann der Fall, wenn einem Phänotyp mehrere Genotypen zugeordnet werden können. Die Häufigkeiten der anteiligen genotypischen Stammbäume werden miteinander zur Gesamtwahrscheinlichkeit der Hypothese *addiert*, z. B.

$$f(Y) = f(Y_{g1}) + f(Y_{g2}) + \dots + f(Y_{gn}).$$

3. Das Zustandekommen einer Hypothese X oder Y durch Zusammenfassung einiger *Einzelhypothesen*. Auf diese Weise verwandelt man *Mehr*hypothesenfälle in einen üblichen *Zwei*hypothesenfall. Um zur Wahrscheinlichkeit der endgültigen Null- oder Gegenhypothese zu gelangen, *mittelt* man die Wahrscheinlichkeiten der anteiligen Einzelhypothesen (vgl. Hummel, 1987).

$$f(Y) = [f(Y_{H1}) + f(Y_{H2}) + \dots + f(Y_{Hn})] / n.$$

Die Häufigkeit des genotypischen Stammbaums berechnet man mit Hilfe des von Ihm und Hummel 1975 beschriebenen Algorithmus. Seine Prinzipien sind die folgenden:

1. Die Wahrscheinlichkeit eines genotypischen, genetisch kompatiblen Stammbaums berechnet sich als Produkt der Wahrscheinlichkeiten (bei „echten Eltern“) bzw. der *bedingten* Wahrscheinlichkeiten (bei „Kindern“) der Genotypen der beteiligten Personen.

2. Ein Proband (= Mitglied des Stammbaums) gilt als „echtes Elter“, wenn er selbst keine im Stammbaum aufgeführten Eltern besitzt. Die Wahrscheinlichkeit seines Genotyps ist

- bei homozygotem Genotyp a-a: $p(a) \cdot p(a)$;
- bei heterozygotem Genotyp a-b: $2p(a) \cdot p(b)$.

$p(a)$ und $p(b)$ sind dabei die Häufigkeiten der betreffenden Allelen.

3. Ist der Proband ein „Kind“, hat also Eltern im Stammbaum, so ist dessen durch die Genotypen seiner Eltern *bedingte* Wahrscheinlichkeit:

- 1, wenn beide Eltern homozygot sind,
- 1/2, wenn ein Elter homozygot, der andere heterozygot ist,
- 1/2, wenn beide Eltern identisch heterozygot sind und auch das Kind diesen Genotyp zeigt (sog. ab-ab-ab-Fall),
- 1/4, wenn beide Eltern heterozygot sind, der ab-ab-ab-Fall jedoch nicht vorliegt.

Wird das Kind nur durch Annahme einer Rekombination bei einem seiner Eltern genetisch kompatibel, multipliziert man seine bedingte Wahrscheinlichkeit mit der Rekombinationsrate r ; für diese kann man (wie wir es hier tun) den Wert 0.0087 einsetzen (loc.cit.).

Problemlösung bei zwei typischen Mehrkindfällen mit Ausschluß eines gemeinsamen Vaters der Kinder

Falltyp 1

Zwei Kinder mit Befunden ihrer Mutter und ihres angeblichen Vaters; Vaterschafts„ausschluß“ zum einen oder anderen Kind, wenn die Möglichkeit einer HLA-A,B-Rekombination außer Betracht bleibt.

Kind 1: A1,3 B1,3 = A1B1/A3B3

Kind 2: A1,3 B1,4 = A1B1/A3B4

Deren Mutter: A1,2 B1,2 = A1B1/A2B2

PV: A3,4 B3,4 = A3B3/A4B4
oder A4B3/A3B4.

Die Mutter hat den beiden Kindern den Haplotyp A1B1 vererbt. Vom Erzeuger stammen die Haplotypen A3B3 und A3B4. Der PV besitzt die geforderten Merkmale, aber nicht beide Haplotypen zugleich. Dies bedeutet: Vaterschaft zu beiden Kindern ist nur durch Beteiligung einer *rekombinanten* Gamete bei der Befruchtung des einen oder anderen Kindes möglich. In diesem Fall trifft die Hypothese X zu: der PV ist Vater beider Kinder. Zwei genotypische Stammbäume sind hierbei möglich (X_{g1} ; X_{g2}) (Abb. 1a):

Die Häufigkeit des Haplotyps A_iB_j bezeichnen wir mit $p(i,j)$. Dann ist $p(1,1)$ die Häufigkeit des Haplotyps A1B1, $p(3,4)$ die Häufigkeit des Haplotyps A3B4 usw.

Mit diesen ist die Wahrscheinlichkeit der *Hypothese X* (= addierte Häufigkeiten der beiden X-Stammbäume)

$$\begin{aligned} f(X) &= f(X_{g1}) + f(X_{g2}) \\ &= 2p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot 2p(3,3) \cdot p(4,4) \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot r \\ &\quad + 2p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot 2p(3,4) \cdot p(4,3) \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot r \\ &= 1/4 \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot [p(3,3) \cdot p(4,4) + p(3,4) \cdot p(4,3)] \cdot r. \end{aligned}$$

Die *Hypothese Y* (= der PV ist Vater des einen Kindes, ein anderer Mann ist der Vater des anderen) weist die Einzelhypothesen Y_{H1} und Y_{H2} auf (Abb. 1b).

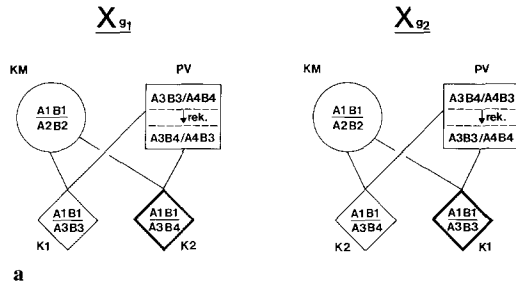
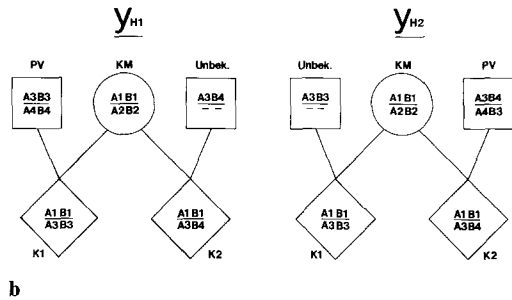


Abb. 1. a Zweikindfall mit 2 verschiedenen genotypischen Stammbäumen unter der Annahme, der PV sei der Vater beider Kinder (= Hypothese X). **b** Zweikindfall mit 2 verschiedenen Stammbäumen für zwei Y-Hypothesen: Der PV ist Vater von Kind 1, ein Unbekannter ist Vater von Kind 2; bzw.: Der PV ist Vater von Kind 2, ein Unbekannter ist Vater von Kind 1.



- Außer diesen beiden sind noch zwei weitere möglich:
- a) Die Kinder stammen von zwei unbekanntem Männern
 - b) Beide Kinder stammen von einem Unbekanntem

Wie bei Fällen mit drei oder mehr Kindern ausgeführt (s.u.), ist es bei diesen ungerechtfertigt, in der Gegenhypothese den PV für *kein* Kind als Vater gelten zu lassen. Aus Gründen der Einheitlichkeit wurde daher auch hier, beim Zweikindfall, die Gegenhypothese mit dem PV als möglichem Vater des einen Kindes (Y_{H1}) oder des anderen (Y_{H2}) gewählt.

Die Wahrscheinlichkeit der *Einzelhypothese* Y_{H1} ist

$$f(Y_{H1}) = 2p(3,3) \cdot p(4,4) \cdot 2p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot 2p(3,4) \cdot 1/4 \cdot 1/4;$$

Die der *Einzelhypothese* Y_{H2} ist

$$f(Y_{H2}) = 2p(3,3) \cdot 2p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot 2p(3,4) \cdot p(4,3) \cdot 1/4 \cdot 1/4.$$

$$f(Y) = 1/2 [f(Y_{H1}) + f(Y_{H2})] \\ = 1/4 \cdot p(3,3) \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,4) \cdot [p(4,4) + p(4,3)].$$

Nun ergibt sich für den Likelihoodquotienten

$$L = f(Y)/f(X) \\ = 1/r \cdot p(3,3) \cdot p(3,4) \cdot [p(4,4) + p(4,3)]/[p(3,3) \cdot p(4,4) + p(3,4) \cdot p(4,3)].$$

Hierbei sind $p(3,3)$ und $p(3,4)$ die Häufigkeiten der beiden, den ehelichen Kindern vom Erzeuger vererbten HLA-A,B-Haplotypen; $p(4,3)$ und $p(4,4)$ sind

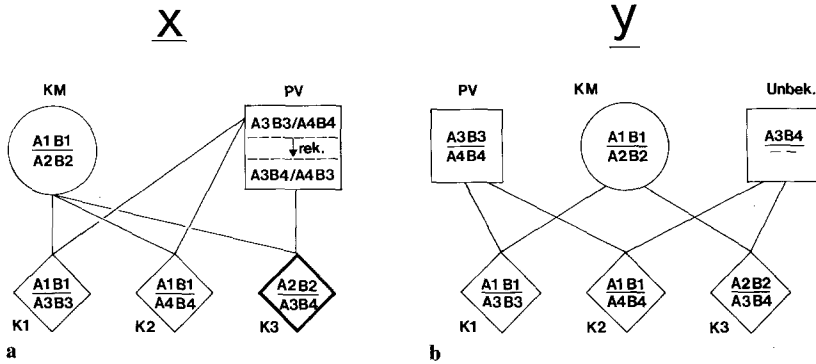


Abb. 2. a Stammbaum eines Dreikindfalls unter der Annahme, der PV sei Vater aller drei Kinder (= Hypothese X). b Stammbaum eines Dreikindfalles unter der Annahme, der PV sei Vater von Kind 1 und 2, ein Unbekannter sei Vater von Kind 3.

die weiteren (evtl. durch Rekombination) beim PV möglichen Haplotypen; r ist die Rekombinationsrate.

Falltyp 2

Drei Kinder mit Befunden ihrer Mutter und ihres angeblichen Vaters; Vaterschafts-„ausschluß“ von Kind 3, wenn die Möglichkeit einer HLA-A,B-Rekombination außer Betracht bleibt.

- Kind 1: A1,3 B1,3 = A1B1/A3B3
- Kind 2: A1,4 B1,4 = A1B1/A4B4
- Kind 3: A2,3 B2,4 = A2B2/A3B4
- Deren Mutter: A1,2 B1,2 = A1B1/A2B2
- PV: A3,4 B3,4 = A3B3/A4B4
 oder A3B4/A4B3.

Die Frage lautet: Handelt es sich bei den 3 Geschwistern um Vollgeschwister – was die Mitwirkung eines rekombinanten väterlichen HLA-A,B-Haplotyps für ein Kind bedeutet – oder stammt das dritte Kind von einem anderen (unbekannten) Mann?

Die Mutter (A1B1/A2B2) hat den *Kindern 1 und 2* den Haplotyp A1B1 vererbt; vom Erzeuger stammt der Haplotyp A3B3 bzw. A4B4. Dieser besäße damit die Haplotypkombination A3B3/A4B4. Der als Erzeuger vermutete Mann (= PV) kann – mit dem Genotyp A3B3/A4B4 – der Erzeuger der beiden Kinder sein. *Kind Nr. 3* (A2B2/A3B4) erhielt von der Mutter den Haplotyp A2B2, vom Erzeuger den Haplotyp A3B4. Der PV (A3B3/A4B4) ist nicht im Besitz von A3B4 – es sei denn mit einer Rekombinanten vom Typ A3B4/A4B3.

Der *Hypothese X* (= Vaterschaft des PV zu allen 3 Kindern) entspricht der in Abb. 2a wiedergegebene Stammbaum.

Seine Wahrscheinlichkeit ist

$$\begin{aligned}
 f(X) &= 2p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot 2p(3,3) \cdot p(4,4) \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot r \\
 &= 1/16 \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,3) \cdot p(4,4) \cdot r.
 \end{aligned}$$

Der *Hypothese Y* (= zwei Kinder stammen vom PV, ein Kind von einem Unbekannten) entspricht der Stammbaum in *Abb. 2b*.

In diesem Stammbaum verblieb der PV als Vater der beiden ersten Kinder. Das Kind 3 hingegen erhielt einen Unbekannten zum Vater. Von insgesamt 15 möglichen Gegenhypothesen wurde die *eine* ausgelesen.

Unter den 15 befinden sich 3, welche eine *Rekombination* erfordern, darunter diejenige, bei der die 3 Kinder von *einem* (unbekannten) Mann stammen. Diese fallen für eine statistische Auswertung weg, weil es nur sinnvoll ist, dem X-Stammbaum – *mit* Rekombination – einen Y-Stammbaum *ohne* Rekombination gegenüberzustellen. Bei 7 von den verbleibenden 12 Gegenhypothesen ist der PV beteiligt, bei 5 nicht. Es besteht kein Grund, den Nichtausschluß des PV zu Kind 1 und 2 in Frage zu stellen. Somit bleibt von den 7 Stammbäumen *mit* dem PV nur der eine übrig, nämlich der, bei dem der PV Vater von Kind 1 und 2 ist. Bei den 5 Stammbäumen *ohne* PV ist mit 1, 2 oder 3 unbekanntem Männern zu rechnen.

Die Wahrscheinlichkeit des zur *Hypothese Y* gehörenden Stammbaums ist

$$\begin{aligned} f(Y) &= 2p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot 2p(3,3) \cdot p(4,4) \cdot 2p(3,4) \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 1/4 \\ &= 1/8 \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,3) \cdot p(3,4) \cdot p(4,4). \end{aligned}$$

Der Likelihoodquotient errechnet sich mit

$$L = f(Y)/f(X) = 2/r \cdot p(3,4).$$

Dabei ist $p(3,4)$ die Häufigkeit des rekombinanten Haplotyps in Stammbaum X.

Defizienzfälle mit HLA-A,B-Befunden ehelicher Kinder oder leiblicher Geschwister des verstorbenen bzw. nicht greifbaren Putativvaters

Falltyp 3

Mit 2 ehelichen Kindern des verstorbenen PV und deren Mutter; beim nicht-ehelichen (*ne.*) Kind ist evtl. ein rekombinanter väterlicher HLA-A,B-Haplotyp vorhanden.

Folgende Befunde liegen vor (mit Faktoren $(A_1, A_2, \dots, A_6; B_1, B_2, \dots, B_6)$):

Ne. Kind: A1,3 B1,3
 Dessen Mutter: A1,2 B1,2
 1. ehel. Kind: A4,5 B3,5
 2. ehel. Kind: A3,5 B4,5
 Deren Mutter: A5,6 B5,6.

Das *ne.* Kind erbt von seiner Mutter den Haplotyp A1B1, von seinem Vater den Haplotyp A3B3. Die Mutter der beiden ehelichen Kinder (A5B5/A6B6) vererbte diesen den Haplotyp A5B5; vom Vater stammen die Haplotypen A3B4 und A4B3. Mit diesen kann er aber den vom *ne. Kind* benötigten Haplotyp A3B3 nicht weitergeben, es sei denn über eine *rekombinierte* Gamete des

Typs A3B3. Der zur „Nullhypothese“ (= der Verstorbene ist Vater aller 3 Kinder) gehörende *Stammbaum X* hat das in Abb. 3a wiedergegebene Aussehen. Seine Häufigkeit (= Wahrscheinlichkeit) ist

$$\begin{aligned} f(X) &= 2p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot 2p(4,3) \cdot p(3,4) \cdot 2p(5,5) \cdot p(6,6) \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot r \\ &= 1/8 \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,4) \cdot p(4,3) \cdot p(5,5) \cdot p(6,6) \cdot r. \end{aligned}$$

Der zur „Gegenhypothese“ (= der Verstorbene ist Vater der 2 ehelichen Kinder; ein Unbekannter ist Vater des ne. Kindes) gehörende *Stammbaum Y* mit 2 Teilstammbäumen Y_{T1} und Y_{T2} ist der in Abb. 3b wiedergegebene.

Die entsprechenden Häufigkeiten sind

$$\begin{aligned} f(Y_{T1}) &= p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,3); \\ f(Y_{T2}) &= 2p(4,3) \cdot p(3,4) \cdot 2p(5,5) \cdot p(6,6) \cdot 1/4 \cdot 1/4; \\ f(Y) &= f(Y_{T1}) \cdot f(Y_{T2}) \\ &= 1/4 \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,3) \cdot p(3,4) \cdot p(4,3) \cdot p(5,5) \cdot p(6,6). \end{aligned}$$

Aus $f(X)$ und $f(Y)$ ergibt sich der Likelihoodquotient

$$L = f(Y)/f(X) = 2/r \cdot p(3,3),$$

wobei $p(3,3)$ die Häufigkeit des rekombinanten Haplotyps ist, den das ne. Kind vom Vater geerbt hat.

Mit $r = 0.0087$ erhält man $L = 230 \cdot p(3,3)$.

Dies bedeutet: Wenn der dem ne. Kind vom Erzeuger vererbte Haplotyp seltener als 0,0044 ist, erhält man aus der HLA-A,B-Konstellation aller 5 Beteiligten einen *positiven* Hinweis auf die Vaterschaft des verstorbenen PV zu allen 3 Kindern, andernfalls einen negativen. Der positive Hinweis verstärkt sich mit fallender Frequenz des entsprechenden Haplotyps.

Falltyp 4

Mit drei Geschwistern des verstorbenen PV; beim PV ist evtl. ein rekombinanter elterlicher HLA-A,B-Haplotyp vorhanden.

Folgende Befunde liegen vor:

- Ne. Kind: $A_{1,3} B_{1,3} = A_{1B1}/A_{3B3}$
 Dessen Mutter: $A_{1,2} B_{1,2} = A_{1B1}/A_{2B2}$
 1. Geschwister des PV: $A_{4,6} B_{3,6} = A_{4B3}/A_{6B6}$
 2. Geschwister des PV: $A_{5,6} B_{5,6} = A_{5B5}/A_{6B6}$
 3. Geschwister des PV: $A_{3,4} B_{3,4} = A_{4B3}/A_{3B4}$.

Die Eltern der 3 Geschwister besaßen, den HLA-A,B-Phänotypen entsprechend, die folgenden Genotypen:

A_{4B3}/A_{5B5}
 und A_{3B4}/A_{6B6} .

Das ne. Kind erhielt von seiner Mutter den Haplotyp A_{1B1} , vom Erzeuger den Haplotyp A_{3B3} . Der verstorbene PV kann von seinen Eltern die Haplotypkombination A_{4B3}/B_{3B4} geerbt haben. Er wäre dann als Erzeuger des ne. Kin-

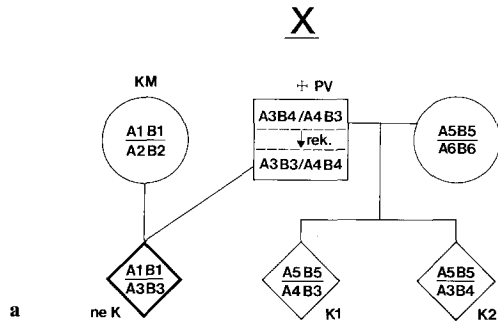
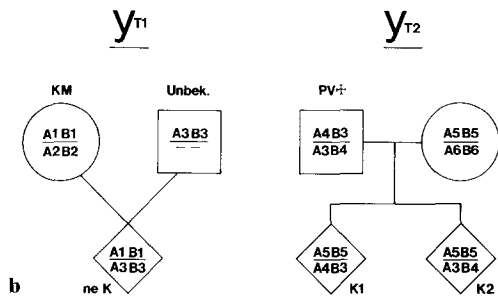


Abb. 3. a Stammbaum eines PV-Defizienzfalles mit 2 ehelichen Kindern und einem nichtehelichen Kind unter der Annahme, der PV sei der Vater aller drei Kinder (= Hypothese X). **b** Zwei Teilstammbäume zu Hypothese Y: Ein Unbekannter ist der Vater des ne. Kindes; der PV ist der Vater der beiden ehelichen Kinder.



des auszuschließen. Er kann das ne. Kind aber auch mit der rekombinanten Gamete A3B3 gezeugt haben.

Für die *Hypothese X* (= der PV ist der Vater des ne. Kindes) existiert der in Abb. 3a wiedergegebene Stammbaum. Seine Wahrscheinlichkeit ist

$$f(X) = 1/64 \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,4) \cdot p(6,6) \cdot p(5,5) \cdot p(4,3) \cdot r$$

Zu *Hypothese Y* (= ein anderer Mann als der PV ist der Vater des ne. Kindes) existieren 2 Teilstammbäume Y_{T1} und Y_{T2} (Abb. 4b).

Die Wahrscheinlichkeit von *Stammbaum Y* ist

$$f(Y) = f(Y_{T1}) \cdot f(Y_{T2}) = 1/8 \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,3) \cdot p(3,4) \cdot p(4,3) \cdot p(5,5) \cdot p(6,6);$$

für den Likelihoodquotienten gilt

$$L = f(Y)/f(X) = 8/r \cdot p(3,3).$$

$p(3,3)$ ist dabei die Häufigkeit des rekombinanten Haplotyps, den das ne. Kind vom Vater geerbt hat.

Nimmt man $r = 0,0087$, dann ist

$$L = 920 \cdot p(3,3).$$

Dies bedeutet: Ist $p(3,3)$ kleiner als 0,001, dann liegt L unter 1, entsprechend EM unter 10.0000 (= positiver Hinweis); liegt $p(3,3)$ über 0,001, ist $L > 1$, ent-

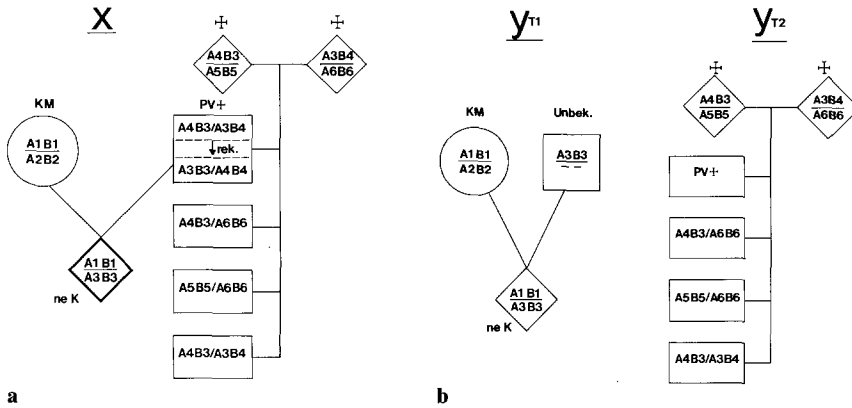


Abb. 4. **a** Stammbäume eines PV-Defizienzfalles mit 3 Geschwistern des PV und einem ne. Kind unter der Annahme, der PV sei der Vater dieses Kindes (= Hypothese X). **b** Zwei Teilstammbäume zu Hypothese Y: ein Unbekannter ist der Vater des ne. Kindes.

sprechend $EM > 10.0000$ (= negativer Hinweis). Der *positive* Hinweis aus $p(3,3)$ ist um so stärker, je weiter dessen Frequenz den Grenzwert von 0,001 unterschreitet.

Falltyp 5

Mit drei Geschwistern des verstorbenen PV; bei einem Geschwister ist evtl. ein rekombinanter väterlicher HLA-A,B-Haplotyp vorhanden. Folgende Befunde liegen vor:

- Ne. Kind: A1,3 B1,3 = A1B1/A3B3
- Dessen Mutter: A1,2 B1,2 = A1B1/A2B2
- 1. Geschwister des PV: A5,6 B5,6
- 2. Geschwister des PV: A4,6 B4,6
- 3. Geschwister des PV: A3,5 B5,6.

Aus den Befunden der 3 Geschwister des PV lassen sich die Haplotypkombinationen bei deren Eltern herleiten: A3B6/A6B6 und A4B4/A5B5.

Das ne. Kind hat von seiner Mutter (A1B1/A2B2) den Haplotyp A1B1 geerbt, von seinem Erzeuger den Haplotyp A3B3. Dieser findet sich unter den og. 4 Haplotypen der Großeltern *nicht*. Nun lassen sich aber – unter Annahme eines rekombinanten Genotyps bei einem der Geschwister – alle 6 Haplotypen in einem *Stammbaum X*, in welchem der verstorbene PV der leibliche Vater des ne. Kindes ist und alle 3 Geschwister samt dem PV legitim sind, unterbringen (Abb. 5a).

Die Wahrscheinlichkeit dieses Stammbaums ist

$$\begin{aligned}
 f(X) &= 2p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot 2p(3,3) \cdot p(6,6) \cdot 2p(5,5) \cdot p(4,4) \cdot 1/2 \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot \\
 &\quad 1/4 \cdot 1/4 \cdot r \cdot 2 \\
 &= 2/64 \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,3) \cdot p(4,4) \cdot p(5,5) \cdot p(6,6) \cdot r.
 \end{aligned}$$

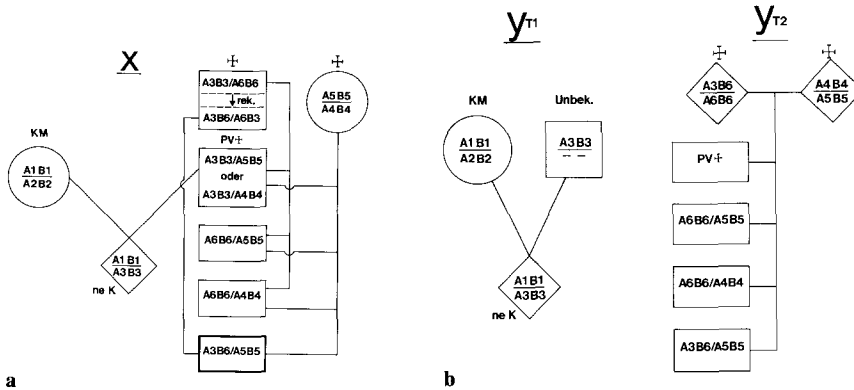


Abb. 5a. Stammbaum eines PV-Defizienzfalles mit 3 Geschwistern des PV und einem ne. Kind unter der Annahme, der PV sei der Vater des ne. Kindes (= Hypothese X). **b** Zwei Teilstammbäume zu Hypothese Y: Ein Unbekannter ist der Vater des ne. Kindes.

Der Stammbaum der *Gegenhypothese* Y (= das ne. Kind hat einen anderen Vater als den PV) setzt sich aus 2 Teilstammbäumen Y_{T1} und Y_{T2} zusammen (Abb. 5b).

Die Häufigkeiten (= Wahrscheinlichkeiten) sind

$$\begin{aligned}
 f(Y_{T1}) &= p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,3) \\
 f(Y_{T2}) &= 2p(3,6) \cdot p(6,6) \cdot 2p(5,5) \cdot p(4,4) \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 2 \\
 f(Y) &= f(Y_{T1}) \cdot f(Y_{T2}) \\
 &= 2/16 \cdot p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,3) \cdot p(3,6) \cdot p(4,4) \cdot p(5,5) \cdot p(6,6).
 \end{aligned}$$

Für den Likelihoodquotienten Y/X gilt nun

$$L = f(Y)/f(X) = 4/r \cdot p(3,6).$$

$p(3,6)$ ist dabei die Häufigkeit des Haplotyps, den das Geschwister mit Rekombination vom Erzeuger erhalten hat. Setzt man $r = 0,0087$, dann ist $L = 460 \cdot p(3,6)$.

Dies bedeutet: Wenn $p(3,6) < 0,0022$ ist, resultiert ein positiver Hinweis auf leibliche Vaterschaft des Verstorbenen zum ne. Kind, bei $p(3,6) > 0,0022$ ein negativer.

Falltyp 6

Mit 3 Geschwistern des verstorbenen PV; beim PV ist evtl. ein rekombinanter elterlicher HLA-A,B-Haplotyp vorhanden.

Folgende Befunde liegen vor:

- Ne. Kind: A1,3 B1,6 = A1B1/A3B6
- Dessen Mutter: A1,2 B1,2 = A1B1/A2B2
- 1. Geschwister des PV: A4,6 B3,6 = A4B3/A6B6
- 2. Geschwister des PV: A5,6 B5,6 = A5B5/A6B6
- 3. Geschwister des PV: A3,4 B3,4 = A4B3/A3B4.

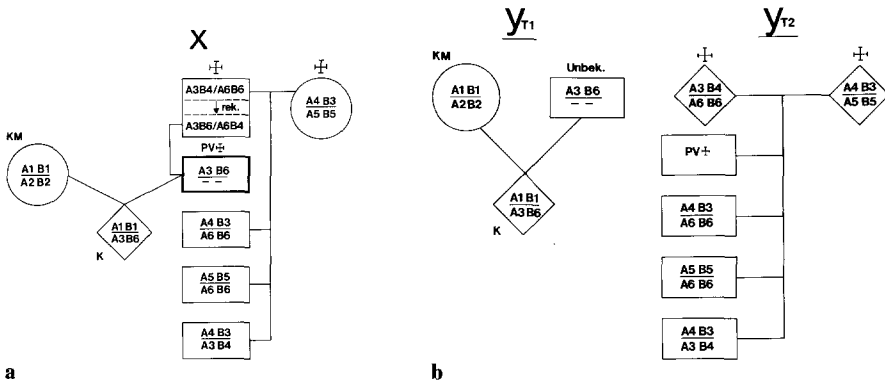


Abb. 6. a Stammbaum eines PV-Defizienzfalles unter der Annahme, der PV sei der Vater des ne. Kindes (= Hypothese X). **b** Zwei Teilstammbäume zu Hypothese Y: Ein Unbekannter ist der Vater des ne. Kindes.

Aus den Befunden der 3 Geschwister lassen sich die 2 Haplotyp-Kombinationen ihrer Eltern herleiten: A3B4/A6B6 und A4B3/A5B5. Wenn der PV der biologische Vater des ne. Kindes sein soll, muß er diesem den Haplotyp A3B6 vererbt haben. Dieser findet sich aber nicht bei seinen Eltern, es sei denn, er habe von einem Elter einen rekombinierten Haplotyp A3B6 erhalten.

Der *Stammbaum X*, in welchem der PV der Vater des ne. Kindes ist, ist in Abb. 6a dargestellt. Seine Häufigkeit ist

$$f(X) = 2p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot 2p(3,4) \cdot p(6,6) \cdot 2p(4,3) \cdot p(5,5) \cdot r \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 1/2 \cdot 2.$$

Der *Stammbaum Y*, in welchem der PV Vollbruder zu seinen 3 Geschwistern ist, ein Unbekannter aber der Vater des ne. Kindes, setzt sich aus den Teilstammbäumen Y_{T1} und Y_{T2} zusammen (Abb. 6b).

Deren Häufigkeiten werden durch Multiplikation zu $f(Y)$ zusammengezogen:

$$f(Y) = p(1,1) \cdot p(2,2) \cdot p(3,6) \cdot 2p(3,4) \cdot p(6,6) \cdot 2p(4,3) \cdot p(5,5) \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 2.$$

Nun erhält man für den Likelihoodquotienten

$$L = f(Y)/f(X) = 4/r \cdot p(3,6),$$

wobei $p(3,6)$ die Häufigkeit des rekombinanten Haplotyps ist, den der PV von seinem Vater erhalten und seinem Kind weitergegeben hat.

Setzt man $r = 0,0087$, dann ist $L = 460 \cdot p(3,6)$.

Dies bedeutet: Wenn $p(3,6)$ seltener als 0,0022 ist, erhält man aus der HLA-A,B-Konstellation der 5 Beteiligten einen *positiven* Hinweis auf die Vaterschaft des Verstorbenen zum ne. Kind, andernfalls einen *negativen*. Der positive Hinweis verstärkt sich mit fallender Frequenz des betr. Haplotyps.

Diskussion

Wenn sich in *Mehrkindfällen* für den *Putativvater (PV) der 2 oder mehr Geschwister* (auch Halbgeschwister) anhand der Blutgruppenbefunde eine hohe Vaterschaftswahrscheinlichkeit ergibt, es aber durch die HLA-A,B-Befunde als „ausgeschlossen“ erscheint, daß die Geschwister von einem *gemeinsamen Vater* stammen (Falltyp 1 und 2), bemerkt der mit dem HLA-System Vertraute, wenn der Ausschluß durch Annahme einer HLA-A,B-Rekombination hinfällig wird. Dabei gesteht man nur jeweils *einem* Geschwister den Besitz eines rekombinanten (vom Vater stammenden) Haplotyps zu; bei den anderen sind „reguläre“ Haplotypen beteiligt. In *Zweikindfällen* mit Ausschluß ist allerdings nicht entscheidbar, bei *welchem* Kind der rekombinante Haplotyp vorliegt und bei *welchem* nicht.

Aus der Konstruktion der HLA-A,B-Haplotyp-Kombinationen (= „Genotypen“) der Beteiligten läßt sich festlegen, *welchen* rekombinanten Haplotyp ein Kind vom Vater erhielt (bzw. erhalten haben könnte). Dabei trägt nicht jedes Geschwister zur genotypischen Festlegung eines Stammbaumes bei. Ein Drei- und Mehrkindfall kann, von hierher betrachtet, typmäßig auch ein „Zweikind“fall sein.

Das Vorhandensein eines rekombinanten Haplotyps bei einem der Geschwister braucht nicht in jedem Fall einen Vaterschafts„ausschluß“ nach sich zu ziehen. In *Zweikindfällen ohne* Befunde des PV gibt es nie einen Ausschluß, unabhängig davon, ob eine Rekombination stattgefunden hat oder nicht.

Wenn sich in *Defizienzfällen* mit HLA-A,B-Befunden ehelicher Kinder oder leiblicher Geschwister des verstorbenen oder nicht greifbaren Putativvaters (PV) ein *Ausschluß* der Vaterschaft des PV *zum ne. Kind* ergibt (= Falltyp 3–6) kann dies auf dem Vorhandensein eines rekombinanten HLA-A,B-Haplotyps bei einem der Kinder (auch dem ne. Kind) bzw. der Geschwister beruhen. Ein starker Hinweis hierauf ist ein hoher W-Wert aus den sonstigen Blutgruppenbefunden.

Voraussetzung für eine solche Deutung des „Ausschlusses“ ist freilich, daß man die vermutete Rekombinante aus den bei den Beteiligten vorliegenden Phänotypen herleiten kann. Wenigstens die Befunde von 3 Kindern des PV (das ne. Kind eingeschlossen) zusammen mit dem Phänotyp der Mutter (bzw. der Mütter), resp. Befunde von wenigstens 3 Geschwistern des PV sind erforderlich, um den Genotyp des PV bzw. die Genotypen seiner Eltern zu konstruieren. Aus diesen können sich dann mögliche rekombinierte Haplotyp-Konstellationen ergeben.

Auch bei Fällen *ohne* Ausschluß können HLA-A,B-Rekombinanten beteiligt sein. Sie bringen aber in aller Regel *hohe* W-Werte, so daß kein Anlaß besteht, sich ihnen näher zu widmen.

Hat man festgestellt, daß der Ausschluß unter Berücksichtigung einer Rekombination hinfällig wird, interessieren die nunmehr für die HLA-A,B-Konstellation einzusetzenden statistischen Kenngrößen Y/X (= L), EM und W.

Bei der Aufstellung der Stammbäume wurden einige *Regeln* eingehalten:

1. Ein rekombinanter HLA-A,B-Haplotyp soll nur bei *einer* Person vorhanden sein: Eine Rekombination ist zu selten, als daß sie bei *mehr* als 1 Person auftreten könnte.

2. Im Y-Stammbaum wird der PV als leiblicher Vater der ehelichen Kinder angesehen. Biostatistisch läßt sich diese Voraussetzung durch Errechnung einer Vollgeschwisterwahrscheinlichkeit anhand vorliegender Blutgruppenbefunde (unter Miteinbeziehung des Phänotyps der Mutter) überprüfen.

3. Im Y-Stammbaum werden die Geschwister des PV als Vollgeschwister geführt. Diese Annahme läßt sich biostatistisch auf ihren Realitätsgehalt überprüfen. Würde sich (z. B. durch Blutgruppenbefunde) ein Hinweis auf Illegitimität eines der Geschwister ergeben, müßte dies bei Auswertung der HLA-Befunde berücksichtigt werden.

4. Alle Beteiligten mit Befunden, für die im Stammbaum *Eltern* aufgeführt sind, müssen einen *eindeutigen* HLA-A,B-Genotyp besitzen. Dabei ist ohne Bedeutung, ob die Eltern typisiert sind oder nicht bzw. ob an einem festgelegten Genotyp ein rekombinanter Haplotyp beteiligt ist oder nicht.

Sind diese Regeln erfüllt, läßt sich der Likelihoodquotient $L = Y/X$ für die HLA-A,B-Konstellation leicht errechnen, und zwar nach folgenden Prinzipien: I. In Zweikindfällen mit Befunden des PV ergeben sich für die Hypothese X zwei genotypische Stammbäume (X_{g1} und X_{g2}). Ihre Häufigkeiten werden addiert.

Die Wahrscheinlichkeit der *Gegenhypothese* Y ergibt sich durch Mitteilung der Häufigkeiten der zugehörigen *Gegenhypothesen* (Y_{H1} und Y_{H2}).

Als Likelihoodquotient ergibt sich für einen Zweikindfall (= Falltyp 1)

$$L = Y/X = 1/r \cdot p(3,3) \cdot p(3,4) \cdot [p(4,4) + p(4,3)] / [p(3,3) \cdot p(4,4) + p(3,4) \cdot p(4,3)],$$

wobei $p(3,3)$ und $p(3,4)$ die Häufigkeiten der beiden, den ehelichen Kindern vom PV vererbten *nichtrekombinanten* HLA-Haplotypen sind, $p(4,3)$ und $p(4,4)$ die beiden *rekombinanten* Haplotypen; r ist die Rekombinationsrate.

II. Der definierte rekombinante HLA-A,B-Haplotyp ermöglicht nur *einen* genotypischen Stammbaum X und *eine* *Gegenhypothese*. Dies gilt für die Falltypen 2–6.

Bei Aufstellung der Stammbäume X und Y definiert sich der HLA-A,B-Genotyp des Putativvaters entweder *voll* (d. h. mit 2 Haplotypen) oder nur *halb* (mit 1 Haplotyp) oder *gar nicht*. Damit gilt ein „*Definitionsindex*“ von 2, 1 oder Null. Ergibt sich für einen PV in beiden Stammbäumen *derselbe* *Definitionsindex*, ist die „*Definitions-differenz*“ *Null*. Die Differenz kann auch 1 sein, z. B. bei den Indices 2 und 1 resp. 1 und *Null*. Sie kann auch 2 sein, und zwar bei den Indices 2 und *Null*.

Nun stellte sich heraus, daß bei Errechnung des Likelihoodquotienten die Häufigkeit des rekombinanten Haplotyps

mit $2/r$ zu multiplizieren ist, wenn die „*Definitions-differenz*“ *Null* ist,

mit $4/r$, wenn sie 1 ist und

mit $8/r$, wenn sie 2 ist;

oder kürzer:

$$L = Y/X = 2/r \cdot f(H_R) \cdot 2^I.$$

Hierbei ist $f(H_R)$ die Frequenz des rekombinanten Haplotyps, r die Rekombinationsrate, I die „*Definitions-differenz*“.

Literatur

- Baur MP, Neugebauer M, Albert ED (1984) Reference tables of two-locus haplotype frequencies for all MHC marker loci. In: Albert ED, Baur MP, Mayr WR (eds) *Histocompatibility testing*. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp 680–682
- Belvedere MC, Curtoni ES, Dausset J, Lamm LU, Mayr W, van Rood JJ, Svegaard S, Piazza A (1975) On the heterogeneity of Linkage estimations between LA and FOUR loci of the HL-A system. *Tissue Antigens* 5:99–102
- Conradt J, Valentin J, Hummel K, Ihm P (1981) An algorithm to evaluate HLA results taking into account recombination between the A and B loci. In: Hummel K, Gerchow J (eds) *Biomathematical evidence of paternity*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 151–158
- Conradt J (1983) *Serostatistische Abstammungsbegutachtung; ein Algorithmus für Verwandtenfälle und das Daten- und Programmsystem PAPS*. Inaug Diss (Hum Biol), Marburg
- Hummel K (1977) *Abstammungsbegutachtung; Verständigungsschwierigkeiten zwischen Juristen und Gutachtern. Anhang: Beschreibung von 23 ungewöhnlichen Fällen strittiger Abstammung*. In: Johannsen KH, Hummel K (Hsg) *Vaterschaftsfeststellung bei nicht-ehelicher Abstammung*. Molter, Heidelberg, S 63ff
- Hummel K (1983a) Sonderfälle strittiger Abstammung aus den letzten 8 Jahren, deren Blutgruppen- und HLA-Befunde im Freiburger Blutgruppeninstitut biostatistisch per Computer ausgewertet wurden. 10. Internationaler Kongress der Gesellschaft für forensische Blutgruppenkunde. Referateband, S 295–310
- Hummel K (1983b) Zur serostatistischen Beurteilung von „Großelternfällen“. 10. Internationaler Kongress der Gesellschaft für forensische Blutgruppenkunde. Referateband, S 237–348
- Hummel K (1987) Zum „Utilitäts“-Prinzip im Rahmen der gerichtlichen Feststellung von Blutsverwandtschaft mittels Serostatistik. *Z Rechtsmed* 98:111–118
- Hummel K, Ihm P, Schmidt V (1971) Biostatistical opinion of parentage based upon the results of blood group tests, vol 1. G. Fischer, Stuttgart
- Ihm P, Hummel K (1975) Ein Verfahren zur Ermittlung der Vaterschaftswahrscheinlichkeit aus Blutgruppenbefunden unter beliebiger Einbeziehung von Verwandten. *Z Immunitätsforsch* 149:405–416
- Mayr W (1972) Grundlagen zur Berechnung der Vaterschaftswahrscheinlichkeit im HLA-System. *Z Immunitätsforsch* 144:18–27
- Ruthenberg A (1986) Überblick über die in den Jahren 1977 bis 1983 zur biostatistischen Auswertung per Computer ins Institut für Blutgruppenserologie in Freiburg eingesandten HLA-Befunde in Fällen strittiger Vaterschaft. Inaug Diss (Med), Freiburg im Breisgau

Eingegangen am 2. Juli 1987