

## TARTU ÜLIKOOLI RAAMATUKOGU

Alagrupidest  $A_1$ ,  $A_2$  ja uutest seroloogilistest tüüpidest, eriti faktoritest M, N ning nende forensilisest tähtsusest.

Gerhard Rooks.

Landsteineri klassilise nelja veregrupi O, A, B ja AB kõrval on kuni praegusajani üles kerkinud kogu rida uusi seroloogilisi faktoreid, mis lubavad inimesi differenttsida märksa enam kui neljaks rühmaks.

Kõige lähemalt nelja grupi süsteemiga on seotud need faktorid, mis ilmsiks tulnud A grupi juures. Juba v. D u n g e r n ja H i r s z f e l d ning S c h ü t z e täheldasid, et nii A kui AB tüüpide hulgas võib eristada kaht A-t. Nad täheldasid nimelt, et seerum anti-A või anti-AB, peale absorptsiooni teatud A verelibledega, võib veel agglutineerida mõnede teiste A-isikute vereliblesid. v. D u n g e r n ja H i r s z f e l d sümboliseerisid ühtesid, tugeva agglutinogeeniga, tähega „A“ ja teisi, nõrga agglutinogeeniga — „a“. Hilisemad uurimused on juurde toonud rohkesti väärtuslikke teadumusi nende agglutinogeenide alal. Praegu tuntakse neid  $A_1$  ja  $A_2$  all. L a n d s t e i n e r ' i gruppide arv võiks tõusta seega kuuele. Üldiselt peatutakse senini siiski vanal jaotusel, kusjuures  $A_1$  ja  $A_2$  näeme esinemas A grupi alaliikidena.  $A_1$  esineb üldse palju sagedamini kui  $A_2$ . K l o p s t o c k leidis Saksamaal 523 A-isiku hulgas 17,5%  $A_2$  ja 49 AB hulgas 28,6%  $A_2$ B. T h o m s e n Taanis  $\frac{4}{5}$   $A_1$  ja  $\frac{1}{5}$   $A_2$ . W o l f f ja J o n s s o n Rootsis 592 A-isiku kohta 459  $A_1$  ja 133  $A_2$ .

Suurem osa mõõduandvaist uurijaist, nagu L a n d s t e i n e r, F r i e d e n r e i c h, T h o m s e n, S c h i f f jt. on asunud seisukohale, et tundlikuma  $A_1$  ja nõrgema  $A_2$  juures on tegemist nii fenotüüpilise erinevusega. On üles.

seatud pärilikkusteooria, mis rajatud B e r n s t e i n'i omale, selle erinevusega, et arvestatud on ka  $A_1$  ja  $A_2$  geenidega, mille tõttu saame nelja geeni hüpoteesi  $A_1$ ,  $A_2$ , B ja R-iga, kolme geeni A, B, R asemel. Üldpõhimõtted on mõlemal teorial samad, siin laienevad vaid võimalused A suhtes. Endise nelja fenotüübi (O, A, B, AB) asemel ühes neile vastava kuue genotüübiga (RR, AA, AR, BB, BR, AB), saame kuus erinevat fenotüüpi:

O,	$A_1$ ,	$A_2$ ,	B,	$A_1B$ ,	$A_2B$ ,			
neile vastava kümne genotüübiga:								
RR,	$A_1A_1$ ,	$A_1A_2$ ,	$A_1R$ ,	$A_2A_2$ ,	$A_2R$ ,	BB, BR,	$A_1B$ ,	$A_2B$ .

Nende genotüüpide järgi on hõlpus järeldusi teha, millised laste tüübid võivad esineda teatud vanemate kombinatsioonide puhul, kui arvestada, et sugurakus (gameedis) esineb kummalgi vanemal vaid üks geen; sugurakkude ühinedes saame siis järglaste genotüübid. Geenid  $A_1$ ,  $A_2$  ja B domineerivad R üle;  $A_1$  üleselle ka  $A_2$  üle.  $A_2$  võib esineda lapsel ka  $A_1$  vanemate juures ( $A_1$  — vanem, olles genotüübilt  $A_1A_2$ , võib edasi pärida ka geeni  $A_2$ ). Samuti kui on võimalik järelduste tegemine laste suhtes, samuti võib teha järeldusi ema ja lapse tüübi põhjal isa suhtes. Selles ja isasuse eitamise võimaluste kasvamises tüüpide  $A_1$  ja  $A_2$  läbi seisabki ühest küljest nende forensiline tähtsus. Tabel I näitab meile, milliseil kombinatsioonel, arvestades  $A_1$  ja  $A_2$ , on võimalik nelja geeni teooria juures isasust eitada:

Tabelis näeme rea eitamisvõimalusi, kus see toimuda võiks samuti tavalise B e r n s t e i n'i teooria põhjal, ilma alajaotust ettevõtmata (näit. I ja IV rida vasemal). Iseseisev eitamine  $A_1$  ja  $A_2$  abil on esmajoones võimalik juhtudel, kui laps  $A_1$  peab põlvenema vanemaist „mitte- $A_1$ “  $\times$   $A_2$  (näit. II rida vasemal, kus mehel  $A_2$  või  $A_2B$ ), või ka kui laps  $A_2$  peab esinema seal, kus  $A_1$  ühel vanemal olemas  $A_1B$  gr. näol (näit. III rida vasemal). Senised perekondade uurimised  $A_1$  ja  $A_2$  pärilikkuse suhtes on näidanud kooskõla teoreetiliste ootusiga. Kuigi  $A_1$  ja  $A_2$  pärilikkus ei ole seni veel leidnud tõestamist nii suurearvuliselt kui teistel tüüpidel, lubaksid seni-

Tab. 1.

Ema	Laps	Isa ei või olla	Ema	Laps	Isa ei või olla
O	O	A <sub>1</sub> B ja A <sub>2</sub> B	B	O	A <sub>1</sub> B ja A <sub>2</sub> B
O	A <sub>1</sub>	O, A <sub>2</sub> , B ja A <sub>2</sub> B	B	A <sub>1</sub>	O, A <sub>2</sub> , B ja A <sub>2</sub> B
O	A <sub>2</sub>	O, B ja A <sub>1</sub> B	B	A <sub>2</sub>	O, B ja A <sub>1</sub> B
O	B	O, A <sub>1</sub> ja A <sub>2</sub>	B	B	—
A <sub>1</sub>	O	A <sub>1</sub> B ja A <sub>2</sub> B	B	A <sub>1</sub> B	O, A <sub>2</sub> , B ja A <sub>2</sub> B
A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub>	—	B	A <sub>2</sub> B	O, B ja A <sub>1</sub> B
A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B	A <sub>1</sub> B	A <sub>1</sub>	—
A <sub>1</sub>	B	O, A <sub>1</sub> ja A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B	B	—
A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> B	O, A <sub>1</sub> ja A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B	A <sub>1</sub> B	O ja A <sub>2</sub>
A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> B	O, A <sub>1</sub> ja A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B	A <sub>2</sub> B	O, B ja A <sub>1</sub> B
A <sub>2</sub>	O	A <sub>1</sub> B ja A <sub>2</sub> B	A <sub>2</sub> B	A <sub>1</sub>	O, A <sub>2</sub> , B ja A <sub>2</sub> B
A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	O, A <sub>2</sub> , B ja A <sub>2</sub> B	A <sub>2</sub> B	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B
A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B	A <sub>2</sub> B	B	—
A <sub>2</sub>	B	O, A <sub>1</sub> ja A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> B	A <sub>1</sub> B	O, A <sub>2</sub> , B ja A <sub>2</sub> B
A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> B	O, A <sub>1</sub> ja A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> B	A <sub>2</sub> B	O

sed tulemused siiski juba nüüd ka nende kasutamisel üle minna.

Mis puutub A<sub>1</sub> ja A<sub>2</sub> diagnoosimisse, siis toimub see vastavate testseerumeiga esemeklaasil (3 tilka seerumit + 1 tilk 1% vereliblede suspensiooni füsiol. soolalahuses) või katsuklaasis tsentrifuugides. Erinevus vanadest gruppideist seisab aga selles, et siin ei saa kasutada testseerumeina vastavaid normaalisoagglutiniine, vaid neid tuleb siin enne vastavalt ette valmistada. v. D u n g e r n ja H i r s z f e l d tarvitasi vereliblede A<sub>1</sub> jaoks antiseerumit, mida saavutasid  $\alpha$  seerumi absorbeerimisel A<sub>2</sub> verelibledega. See oleks  $\alpha_1$  ehk anti-A<sub>1</sub> seerum. Selle valmistamiseks võetakse S c h i f f i järgi seerum B +  $\frac{1}{20}$  osa sellest vereliblesid A<sub>2</sub>, näit. 5,0 cm<sup>3</sup> seerumit + 0,25 cm<sup>3</sup> vereliblede sedimenti. (K l o p s t o c k võtab vereliblesid  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{20}$  osa seerumist). Absorptsioon toimub 1 tund toas või 20 tundi jääkapis. Absorbeeritud seerum ei tohi verd A<sub>2</sub> enam agglutineerida, A<sub>1</sub> peab ta agglutineerima aga eriti tugevasti. Tarviduse puhul tuleb absorptsiooni korrata. Võib ka seerumit peale absorptsiooni lahjendada füsiol. soolalahusega, nii et ta A<sub>2</sub> enam ei agglutineeri, küll

aga veel  $A_1$ . Kui puuduvad tuntud  $A_2$  verelibled, siis tuleb toimetada absorptsioonproove rea A-isikute veredega ning samade isikute verelibledega hiljem paralleelkatseis proovida absorbeeritud seerumeid, kust siis leiame vahet  $A_1$  ja  $A_2$  suhtes.

Kui pole olemas  $A_2$  vereliblesid, siis võib  $A_2$  absorptsiooni asetada ka teiste A-t sisaldavate lahuseiga. Ottensooser ja Zuruksoglu tarvitasid pepsiini, mis Brahn'i ja Schiff'i järgi sisaldab A-t. Ka Schiff tarvitab seda. 1% pepsiini põhilahus steriliseeritakse 30 minuti vältel. Lahus takistab veel suures lahjenduses igat A agglutinatsiooni. Lahustatakse veel enam, siis jõutakse piirini, kus  $A_2$  agglutinatsioon jääb ära, kuna  $A_1$  agglutinatsioon ei takistu.

Anti- $A_2$  ehk  $a_2$  seerumit võib saavutada mõnede loomade normaalseerumist peale absorptsiooni  $A_1$  verelibledega. Seesuguses seerumis leidub aga ka reeglipäraselt  $\beta$ -taoline agglutiniin, millepärast ka see tuleb absorptsiooni teel  $A_1B$  või B verelibledega kõrvaldada. Kuna aga  $a_2$  seerum  $A_1B$  ja  $A_2B$  eristamisel, kus  $\beta$  võib mõju avaldada, ei anna rahuldavaid tagajärgi, siis võib sellest teistkordsest absorptsioonist  $A_1$  ja  $A_2$  eristamiseks ka üldse loobuda. (Normaalloomaseerumist sai Schiff absorptsiooni teel AB verelibledega samuti anti-O seerumi.)

Seerumeid anti- $A_1$  ( $a_1$ ) ja anti- $A_2$  ( $a_2$ ) võib leida vahest aga normaalselt ka inimesel. Nii mõnede  $A_2$  ja  $A_2B$  isikute seerumite hulgas tuleb ette ekstraagglutiniin tüübilt  $a_1$  (Friedenreich'i irregulaarne  $a_1$ ), mis mõnikord võib olla kaunis tugev ja leida kasustamist diagnoosimisel. Wolff ja Jonsson leidsid 98  $A_2$  seerumi hulgas 5 korral — ja 12  $A_2B$  seerumis 7 korral  $a_1$ . Harvem sisaldab  $A_1$  isikute seerum ekstraagglutiniine  $a_2$ , eriti tugevamaid, mida võiks tarvitada  $A_2$  diagnoosimiseks. Nende agglutiniinide leid on ühtlasi kontrolliks agglutinogeeni määramisel.

$A_1$  ja  $A_2$  eristamisel vastavate antiseerumeiga on tulemused enamalt jaolt selged.  $A_1B$  ja  $A_2B$  juures võib enne tekkida raskusi, eriti väikesil lastel. Forensilisel uurimisel peavad lapsed üle  $\frac{1}{2}$  a. vanad olema.

On tulemused ebaselged, või on tarvilik ette võtta kontrolli — on olemas mitmeid võimalusi. Nii võib ette võtta vereliblede tundlikkuse määramist B- või O-testseerumite suhtes ja võrrelda samaseid tulemusi tuntud A<sub>1</sub> ja A<sub>2</sub> verelibledega. Seda meetodit võib tarvitada eriti A<sub>1</sub>B ja A<sub>2</sub>B differentsimisel. Tähtsamaks kontrollimisvahendiks on veel vereliblede absorptsiooni võime määramine anti-A seerumi suhtes T h o m s e n'i järgi. Seerum võetakse mitmesse klaasi; nendesse lisatakse tõusvais hulkades uuritavaid vereliblesid. Peale absorptsiooni proovitakse (titreeritakse) seerumi agglutinatsiooni võimet A<sub>1</sub> vereliblede suhtes. Oli tegemist A<sub>1</sub> verelibledega, siis toimus anti-A absorptsioon juba väikeste vereliblede hulkade juures, oli aga tegemist A<sub>2</sub>, siis nõudis absorptsioon palju suuremaid vereliblede hulki. Üle selle tarvitatakse veel B või O immuunseerumeid spetsiifilise hemolüütilise mõjuga A<sub>1</sub> vereliblede vastu, kus tuleb hoolitseda komplemendi olemasolu eest ning mitmeidki teisi meetodeid, milledest lähemalt mainivad A k u n e, K l o p s t o c k jt.

Kui mitte neid alagruppe silmas pidada, võib tekkida mõnikord raskusi vanade gruppide määramisel, eriti AB puhul, kui A väga nõrk. Ühel minu juhtudest oli lapsel AB omadus A väga nõrk, lasi end tõestada vaid üksikute seerumeiga, millest tekkis kahtlus, kas tegemist B või AB grupiga. Seerumi proovimisel selgus, et selles on tugev agglutiniin  $\alpha$  mis andis agglutinatsiooni aga ainult teatud A verelibledega. Siit oli näha, et tegemist ei saanud olla puhta B tüübiga, vaid A<sub>2</sub>B, kus esines agglutiniin  $\alpha_1$ . Ema kuulus A<sub>2</sub> gruppi. Transfusiooni suhtes on alagrupid tähtsad ekstraagglutiniinide ettetuleku tõttu. Kuigi ekstraagglutiniinid seisavad lähidal n. n. külmaagglutiniinidele, võivad nad mõnikord oma toimet avaldada siiski ka 37<sup>0</sup>-il, mille puhul võiks järgneda transfusioonil ootamata agglutinatsioon. Seda eriti ka AB grupil, kus ekstraagglutiniinid sagedamad ja milline grupp muidu tuntud universaalse vastuvõtjana.

Hoopis sõltumatud nelja veregrupi süsteemist on faktorid M, N ja P, mida leidsid L a n d s t e i n e r ja L e v i n e 1927. a. Samuti ka teised faktorid, nagu G ja H. Erinevad

on nad juba selles suhtes, et nende kindlakstegemine ei toimu üldse normaalisooagglutiniinide abil, see on antikehadega, mis esinevad normaalselt samas liigis, vaid agglutiniiniga, mis tekivad kunstlikult teises loomaliigis, viimaseid immuniseerides inimese verega. Kui süstida kodujänesele inimese verd, siis tekivad selle seerumis hemolüsiinid ja agglutiniinid, mis osalt liigispetsiifsed (inimesevere vastu üldse), osalt grupispetsiifsed, s. t. grupi retseptori A ja B vastu. Järelikult on A-1 ja B-1 antigeeni omadused. Seda pidas silmas juba Landsteiner 1902. a. Inaktiveerides immuniseeritud kodujänesese seerumit 1 tund 56<sup>0</sup>-il, hävitatakse hemolüsiin. Kokku viies seerumi inimesverelibledega, kaob sellest absorptsiooni teel liigivastane agglutiniin. Kui kodujänesele süstiti A või B veri, siis jäi seerumisse üle selle veel grupispetsiifne agglutiniin, mida võib tarvitada antiseerumina A ja B vastu. Kui tahetakse ka sellest antikehast lahti saada, siis võib süstides tarvitada 0 gr. verd, kus agglutinogeeni ei ole, või kõrvaldada tekkinud grupispetsiifset antikeha uue absorptsiooni teel, kusjuures tuleb seerumit ühte viia vastavalt kas A või B verelibledega. Tehes sääraseid süstimisi ja absorbeerides liigi kui ka grupispetsiifseid agglutiniine, leidsid Landsteiner ja Levine, et mõnedesse seerumeisse oli jäänud veel agglutiniin, mis andis agglutinatsiooni teatud isikute veredega. Sellega oli kindlaks tehtud veel ühe agglutinogeeni olemasolu, mis leidis ka süstitud verel ja mis põhjustas ka vastava agglutiniini tekkimist. Seda agglutinogeeni nimetasid Landsteiner ja Levine faktoriks M. Tehes uusi katseid ja süstimisi ning kõrvaldades immuunseerumeist peale teiste antikehade ka agglutiniini anti-M, täheldasid autorid veel üht teist agglutiniini, mis andis agglutinatsiooni jälle mõnede teiste veredega, mille läbi oli kindlaks tehtud agglutinogeeni olemasolu, mida nad nimetasid faktoriks N. Umbes sarnaselt tõestati ka veel mõned teised uued faktorid, millede juurde tuleme veel allpool. Nii Landsteiner'i ja Levine'i P, Schiff'i H ja G jt.

Faktorid M ja N on eriti viimase paari aasta jooksul leidnud põhjalikku uurimist, mille tõttu nad on ka paremini välja

selgitatud. Nende kindlakstegemine toimub vastavate immu-  
niseerimisel saadud anti-M ja anti-N seerumeiga.

Mis puutub nende faktorite ettetulekusse, siis võivad nad  
esineda koos, või üksikult, ei ole aga ette tulnud, et nad olek-  
sid puudunud ühel ajal. Selle tõttu moodustavad inimesed  
nende esinemise järgi ainult kolm rühma, mitte neli, nagu A,  
B juures. Euroopas esineb MN ligikaudu 50%, M — 30% ja  
N — 20%-iga. Tabel 2 näitab mõnede autorite kokkuvõtteid.

Tab. 2.

	Isikute arv	M	N	MN
<b>Valged:</b>				
Blaurock (Köln) . . . . .	2000	29,4%	21,5%	49,1%
Schiff (Berlin) . . . . .	3333	30,94%	19,63%	49,43%
„ (Volgasakslased) . . . . .	180	23,40%	27,80%	48,90%
Laubenheimer (Frankfurt M.) . . . . .	1000	27,0%	20,1%	52,9%
Crome (Bonn) . . . . .	3800	30,8%	19,6%	49,6%
Nicoletti (Sitsiilia) . . . . .	300	ca 30	20	50
Wiener ja Vaisberg (New York) . . . . .	904	30,53%	21,24%	40,23%
<b>Neegrid:</b>				
Landsteiner ja Levine . . . . .	730		28,10%	
Landsteiner . . . . .	171	27,60%		
<b>Indiaanlased:</b>				
Landsteiner ja Levine . . . . .	205	60,0%	4,90%	35,10%
<b>Jaapanlased:</b>				
Shigeno . . . . .	202	30,30%	23,90%	45,80%

Omadused M ja N on püsivad, nad on juba vastsündinuil  
olemas. Omaduste M ja N pärilikkus toimub kõige lihtsama  
M e n d e l'i skeemi järgi. On olemas vaid üks paar mendel-  
davaid geene. Üks põhjustab M, teine N tekkimist. Satu-  
vad mõlemad geenid kokku, siis ei suruta mitte üks omadus maha,  
vaid jäävad mõlemad, nii kui seda teame AB gr. kohta. Tege-  
mist on järelikult intermediaarse pärilikkusega. MN on nõr-  
gem kui mõlemad omadused üksikult esinedes, mida tuleb sil-  
mas pidada nende diagnoosimisel.

Sümboliseerides geene M ja N jaoks A ja a, oleksid kolm genotüüpi: AA, Aa, aa, millelele vastaksid kolm erinevat fenotüüpi: M, MN ja N.

Tunnused M ja N pole üksteisest sõltumatud, vaid nad on seoses lihtsa, kuid kindla seadusepärasusega; selle poolt kõneleb juba asjaolu, et nad kunagi ei saa mõlemad korraga puududa. See leiab aga tõendust ka perekonna — vanemate ja laste uurimisis. Oletatava pärilikkuse puhul peaksid teatud vanemate kombinatsioonest võrsuma vaid teatud laste tüübid. Seal, kus oodata on mitmeid tüüpe, peaksid nad esinema kindlas arvulises vahekorras. Järgnev tabel näitab siin võimalikke kvali- ja kvantitatiivseid vahekordi:

Tab. 3.

Vanemad	Lapsed		
	M	N	MN
1. M x M	100	0	0
2. N x N	0	100	0
3. M x N	0	0	100
4. MNx M	50	0	50
5. MNx N	0	50	50
6. MNxMN	25	25	50

Uurimused, mis võeti ette perekonnis, kus polnud tarvis kahelda laste legaalses päritolus, samuti ema-lapse, ning populatsioon-statistilised uurimused on andnud faktorite M, N pärilikkusele kindla tõenduse.

Selle M ja N omaduste kindla pärilikkuse peale ongi rajatud tema kasustamine forensilises praktikas isasuse määramisel. Tagajärjed, mida siin oodata, on samuti eitavad nagu veregruppide A, B juures. Üle selle omavad M ja N tähtsuse ka vere määramisel kuivanud laikudes kuritegude puhul ning laste vahetuse puhul. (Transfusioonil M ja N olemasolust hädahoitu ei ole, kuna neil puuduvad vastavad isoagglutiinid.)

Tabel 4 näitab meile, milliseil M, N faktorite kombinatsioonel isasus osutub võimalikuks ja kunas võimatuks:

Tab. 4.

Laps	Ema	Isa võib olla	Isa ei või olla
1. M	M	M või MN	N
2. M	MN	M „ MN	N
3. N	N	N „ MN	M
4. N	MN	N „ MN	M
5. MN	M	N „ MN	M
6. MN	N	M „ MN	N
7. MN	MN	M „ N või MN	—

Kombinatsioonide 1—4 puhul võib isasuse tühistamine toimuda ema verd uurimatult, mis praktiliselt tähtis.

Faktorite M ja N määramiseks valmistatakse immuunseerumeid. Kogu toimingut võib Schifff'i järgi jagada kolmeks osaks: a) immuunseerumi valmistus, b) immuunseerumi selektiivne absorptsioon ja c) diagnoosimine absorbeeritud immuunseerumiga.

Immuniseerimiseks tarvitatakse tavaliselt kodujäneseid, sest mitte iga loom ei anna soovitud antikeha. Raskused seerumite valmistamisel seisavad selles, et faktorite antikehad ei teki üldiselt nii kergesti kui liigi antikehad. Nii kui pretsipiitiinseerumite valmistamisel, samuti on ka siin paljudel instituudidel tehnika suhtes omad väikesed lahkuminekid ja omapärasused. Seerumite väärtuse suhtes etendab arvatavasti osa ka loomade rass, millest oleneb, et ühes kohas saadakse kohe häid seerumeid, teises kohas aga vaatamata paljude loomade immuniseerimisele, siiski mitte. Ka aastaag, kunas loomi immuniseeritakse näib olevat mõõduandev. Schifff soovib immuniseerimiseks tarvitada 5—10 looma. Immuniseerimistoiming on sama nagu tavaliste immuunseerumite valmistamisel. Ta soovib süstida intravenoosselt 1—2 cm<sup>3</sup> verd 3—7-päevaste vaheaegadega. Mõnikord tuleb immuniseerimist jätkata kauemat aega, et saada tugevamat seerumit. Akune süstib korraga 1 cm<sup>3</sup> 2× pestud erütrotsüüte

2—5 cm<sup>3</sup> füsiol. soolalahuse kohta, umbes samasuguste vaheaegadega. Proovi antikehade suhtes teeb nädal aega peale viimast süstimist. Anti-N tekkis tavaliselt peale 5.—6. süstimist. Blaurock süstib 6 korda, võttes iga kord erütrosüütide hulka, mis vastab 10 cm<sup>3</sup> täisverele.

Crome soovib võtta immuniseerimiseks 4 keskmise kasvuga noort kodujänest. Antigeeniks tarvitav veri peab kuuluma 0 gr. ja sisaldama vaid ühte faktoreist M või N vastavalt sellele, millist agglutiniini tahetakse saada. Crome võtab 1. päeval vereandjalt 20 cm<sup>3</sup> verd, 9. ja 15. päeval à 10 cm<sup>3</sup>, nelja resp. kahe cm<sup>3</sup> 3% natriumtsitraadi lahuse kohta. Esimene pool 1. päeval võetud verest süstitakse peale vastavat ettevalmistust kohe. Teine pool ja 9. ning 15. päeval võetud veri jagatakse kolmele klaasile ja hoitakse jahutuskapis. Enne süstimist veri sedimenteeritakse ja vabastatakse seerumist ning pestakse 2× füsiol. soolalahusega. Pestud libled paigutatakse 10 cm<sup>3</sup> füsiol. soolalahusesse. Süstitakse üle päeva kodujänese kõrva tõmbsoonde, üldse 10×, kusjuures iga loom saab 1. päeval umb. 1,2 cm<sup>3</sup> ja järgnevail umb. 0,4 cm<sup>3</sup> punaliblesid. Viimane süstimine on 19. päeval. 24. päeval võetakse kõrvast verd (umbes 5 cm<sup>3</sup>) proovimiseks spetsiifilisile agglutiniinile. Veri tsentrifuugitakse ja inaktiveeritakse pool tundi 56<sup>0</sup>-il veevannis. Selle järel tuleb mittesoovitavate antikehade eemaldamiseks ette võtta elektiiivne absorptsioon. Absorbeerimine toimub verega, millel puudub see faktor, mille vastu loom on immuniseeritud. Kui faktor ei ole veel määratud, siis absorbeeritakse paralleelkatseis mitme isiku verega. 10 tundmatu vere hulgas võib leida keskmiselt 3 verd ilma faktorita N ja 2 ilma faktorita M. Kuna orienteerumisprooveks seerumit läheb vähe, siis saab neid ka rohke- mal arvul ette võtta, suurema materjali kulutuseta. Absorbeeritud seerumeid proovitakse faktoreid sisaldava vere suhtes, või, kui niisugust ei ole, siis mitme isiku tundmatu verega, eriti 0 grupist. Juba 3—4 proovi hulgas võib leida otsitavat faktorit, millest nähtub, et seerumis peale liigi agglutiniini leidus ka faktori agglutiniin. Faktori tüüp määratakse kindlaks selle esinemise sagesuse järgi.

Immuniseerimise suhtes C r o m e täheldas, et M kodu-  
jänesed, kellel ei tekkinud esialul anti-M, andsid seda peale  
teistkordset immuniseerimist nelja nädala järgi. See on seda  
tähtsam, et anti-M mõnedel loomadel alul üldse ei teki, või kui,  
siis väga nõrgalt. Ka A k u n e mainib, et anti-M seerum te-  
kib raskemini kui anti-N. (Tekkides on ta aga tugevam ja  
diagnoosimine temaga on hõlpsam kui anti-N-ga.)

Esmakordne faktori kindlaksmääramine hõlbustatakse  
valmisseerumeiga. Sarnast valmistavad turu jaoks ka Beh-  
ringwerke. Seetõttu võib enne ära määrata faktorit veres  
ning tarvitada siis juba tuntud verd immuniseerimiseks.

Kui absorptsioon on toimunud ja faktori antikeha seeru-  
mis kindlaks tehtud, siis tuleb toimetada seerumi puhtuse ja  
tiitri määramist. Osutub seerum kõrgeväärtuslikuks, siis ui-  
mastatakse loom kuklahoobiga ja läbi lõigates kaela tuiksoo-  
ned, lastakse ta verest tühjaks. Saadud veri jäetakse 1—2  
päevaks jahutuskappi ja peale selle eraldatakse seerum. See  
täidetakse klaasidesse, inaktiveeritakse ja paigutatakse alal-  
hoidmiseks, parem jäätanud seisukorras. Absorbeeritud see-  
rum püsib vähem. (Behring'i oma mõni nädal.) Seerumeid  
tarvitusele võttes tuleb neid alati kontrollida. Paremaid taga-  
järgi alalhoidmise suhtes töötavad anda kuivatatud seerumid,  
milledega toimitakse praegusajal katseid.

Toorseerumi absorptsioon toimub inaktiveeritud  
seerumi ja pestud verelibledega. Seerumit lahjendatakse  
S c h i f'i järgi füsiol. soolalahusega 1:25—1:100 kohta, puna-  
liblesid võetakse absorptsiooniks  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{1}$  seerumi voluumist.  
Iga seerumi jaoks saab proovimisega kindlaks teha punalib-  
lede kvantum, mis ühekordse, ühetunnilise absorptsiooni juu-  
res toa temperatuuris kõrvaldab liigiagglutiniini. Absorpt-  
siooni võib lasta toimuda ka öö jooksul jääkapis. Absorpt-  
sioon 37<sup>0</sup>-il N diagnoosimiseks pole enama jao seerumite jaoks  
tarvilik, eriti kui agglutinatsioon pärast ette võetakse tsentri-  
fuugimisega. Ka C r o m e absorbeerib anti-N seerumeid toa  
temperatuuril (B l a u r o c k enne 37<sup>0</sup>, siis 22<sup>0</sup>-il), mille puhul  
ka diagnostilisel katsel võib töötada toa temperatuuril. Ta  
lahjendab immuunseerumeid elektiivseks absorptsiooniks fü-

siol. soolalahusega 1:20 kohta. Sellele lisab ta  $\frac{1}{2}$  seerumi voolumist sedimenteeritud, pestud punaliblesid  $2 \times$  à  $\frac{1}{2}$  tunniks. Anti-M seerumi saamiseks absorbeeritakse immuunseerum AN verega, anti-N saamiseks AM verega. Kõige parem on tarvitada absorptsiooniks mitme isiku vere segu samast rühmast. Anti-M seerumi absorptsioon ei valmista üldiselt erilisi raskusi, anti-N seerumite juures võib see raskusi tekitada. Absorbeeritud seerumeid tuleb kontrollida eriti puhtuse suhtes. Tuleb silmas pidada, et kodujäneseil tekib immuniseerides eriti sageli grupispetsiifiline anti-A agglutiniin. Puhtad seerumid ei tohi anda agglutinatsiooni standartverelibledega ükskõik missugusest grupist, eriti aga A gr. (kui neil puudub faktor, mille vastu seerum valmistatud). Anti-M seerumid osutuvad enamalt peale  $2 \times$  absorptsiooni puhtaks, mitte nii anti-N seerumid, kus tuleb sageli ette võtta veel kolmandat absorptsiooni vähema vereliblede hulgaga. Eriti tuleb silmas pidada seda, et kõrvaldatud oleksid ka tundmatud faktori antikehad. Diagnoosimine toimub kas esemeklaasil või katsuklaasides.

Puhtuse kõrval tuleb määrata seerumite tiitrid. Selleks valmistatakse klaasidesse seerumi lahjendused. Esimesesse klaasi  $0,1 \text{ cm}^3$  seerumit, järgmisesse igauhte à  $0,1 \text{ cm}^3$  füsioloogilist soolalahust. Siis lisandatakse teise klaasi  $0,1 \text{ cm}^3$  seerumit ja segatakse, teisest võetakse  $0,1 \text{ cm}^3$  seerumi segu kolmandasse, kolmandast neljandasse jne. Viimasest klaasist kõrvaldatakse  $0,1 \text{ cm}^3$  seerumi segu. Kõigis klaases on seega  $0,1 \text{ cm}^3$  seerumit tõusvas lahjenduses  $\frac{1}{1}$ ,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{8}$  jne. Neile lahjendustele lisandatakse igasse klaasi  $0,1 \text{ cm}^3$  2,5% vereliblede suspensiooni. Testlibledeks võetakse teatud OM verd anti-M seerumi proovimiseks ja ON verd anti-N seerumi proovimiseks. Agglutinatsiooni vaadeldakse peale 10 min. seismist ja tsentrifuugimist, või peale 2—4 tunnilist seismist toas. Samuti võib titreerida ka esemeklaasil, kandes seerumit ühelt klaasilt teisele. Esemeklaasil on agglutinatsiooni tiiter kõrgem kui tsentrifuugides katsuklaasis; seerum, mis annab esemeklaasil agglutinatsiooni lahjenduseni 1:16, annab tsentrifuugides agglutinatsiooni veel lahjenduseni 1:32. Tit-

seerida tuleb seerum ka MN vereliblede suhtes. Siin on agglutinogeenid nõrgemad ja vastavalt seerumi tiiter madalam. Anti-M seerumid annavad Cromé järgi OM veredega tsentrifuugimisel agglutinatsiooni veel lahjendusel 1:256 kohta. Anti-N seerumid on nõrgemad, tsentrifuugides tekib agglutinatsioon veel lahjendusel 1:16—1:32 (5.—6. klaasis); esemeklaasil lahjenduseni 1:8. (Tiitri tugevus autoreil on erinev, mis oleneb osaliselt erinevast tiitri arvestamise viisist.)

Forensilise uurimise puhul määratakse esmalt veri katusklaasis või esemeklaasil. Siis järgnevad kontrollid: esmalt titreeritakse siin uuritava vere suhtes testseerumit. Valmistatakse seerumi lahjendusi nagu eespool ja lisandatakse vastavalt uuritavat verd. Oli näiteks tegemist M verega, siis annab anti-M seerum agglutinatsiooni veel suure lahjenduseni (näit. 1:256), anti-N ei anna aga üldse. Teiseks tehakse kontrollina absorptsioonproov. Selleks titreeritakse enne testseerumit teatud M ja N vere suhtes. Siis absorbeeritakse. Võetakse kaks klaasi: ühte titreeritud anti-M ja teise anti-N seerumi, kummassegi 0,3 cm<sup>3</sup>. Nii ühte kui teise klaasi lisandatakse uuritavat verd, anti-M seerumile  $\frac{1}{3}$  voluumi vereliblesid (järelilikult 0,1 cm<sup>3</sup>) ja anti-N seerumile  $\frac{1}{6}$  vol. (0,05 cm<sup>3</sup>). Vereliblesid tuleb enne kaks korda pesta. Lastakse siis pool tundi seista, tsentrifuugitakse ning kallatakse seerum pealt ära. Selle järel korratakse samasuguselt teistkordne absorptsioon uute verelibledega ning eemaldatakse uuesti seerum. Viimasest valmistatakse lahjendused ning teda uuritakse teatud verelibledega, kust siis näeme, kas on agglutiniin absorbeerunud või mitte. Kui näiteks M verelibledega agglutinatsiooni ei järgne, siis oli anti-M absorbeerunud. N libledelaga aga tekib agglutinatsioon seerumi lahjenduses kuni 1:8, enne 1:16.

Tarvitades anti-M seerumi juures  $2 \times \frac{1}{3}$  voluumi punaliblesid saab faktori olemasolul agglutiniin täielikult absorbeeritud; faktori puududes võib aga seerumi tiiter peale absorptsiooni nõrgemaks jääda, nimelt jääb agglutinatsioon ühe klaasi võrra varem ära. Anti-N puhul on  $\frac{1}{6}$  vol. absorptsioon täielik, faktori puududes langeb siin peale absorptsiooni tii-

ter 1—2 klaasi võrra. Täiskasvanuilt tuleb nendeks proovideks verd võtta vähemalt 1—2 cm<sup>3</sup>. Lastelt võetakse absorptsiooni proov ette väikesis katsuklaasikesis, et läbi saada vähema vere hulgaga. Võetakse neli katsuklaasikest. Kapillaariga lastakse igasse klaasikesesse 1 tilk 3% naatriumtsitraadi lahust ja verd kuni pooleni. Tsentrifugeeritakse ja eraldatakse seerum; vereliblesid pestakse kahel korral. Pestud ja sedimenteeritud verelibledele lisandatakse kapillaariga  $\frac{1}{3}$  resp.  $\frac{1}{6}$  anti-M, või anti-N seerumit. Peale esmakordset absorptsiooni kallatakse seerum ära ja toimetatakse kahe ülejäänud klaasiga uus absorptsioon. Siis toimub esemeklaasil või katsuklaasis tsentrifuugides tiitri määramine.

Mis puutub *Landsteiner* ja *Levine*'i faktorisse P, siis ei ole see veel võrdne kasustamise suhtes faktoreile M ja N, sest ta esineb vahelduva tugevusega. Tugeva positiivse agglutinatsiooni puhul on faktori määramine lihtsam, samuti negatiivsel agglutinatsioonil. Üksikuil vahepealseil on aga agglutinatsiooni määramine raske. Ka kõik antiseerumid ei anna siin ühtlaseid tulemusi. Faktor P-gi antakse edasi pärimisteel. Tema pärilikkus ei ole aga sedavõrt reeglipärane, et teda saaks juba praegu kasustada nagu M ja N. P-d võib samuti nagu M ja N kodujänese immuunseerumiga kindlaks teha. Kodujäneseil tekib aga anti-P harva, selle tõttu on immuniseerimiseks soovitatav valida merisiga, süstides mitme isiku O gr. vere segu. Mitme isiku hulgas leidub ka P. Kiiremini jõutakse aga sihile, kui tarvitada normaalhobuseseerumit. Mitte iga hobuseseerum ei sisalda anti-P, seetõttu tuleb proovida kohe 5—10 seerumit. Seerum inaktiveeritakse ja lahustatakse füsioloogilise soolalahusega. Iga seerumit absorbeeritakse paralleelselt 5—10 isiku verelibledega (jätkub  $\frac{1}{10}$  vol. vereliblesid. *Landsteiner*  $\frac{1}{2}$  vol.). Absorptsiooni vältus 1 tund toa temperatuuril. 0,1 cm<sup>3</sup> absorbeeritud seerumile lisandatakse siis prooviks sama palju 1% vereliblede suspensiooni. Kui P verd käepärast pole, siis tuleb absorbeeritud seerumeid proovida mitme isiku vere suhtes (nii absorptsiooniks, kui pärastiseks prooviks O isikud). Peale absorptsiooni on mõnes seerumis agglutiniinid täitsa kadunud, mõnes

olemas. Proovides ja võrreldes neid seerumeid üksteisega samade libledede suhtes saame nii P olemasolu kindlaks määrata.

Mainitud faktoreiga ei ole aga seroloogiline differentsemine veel lõpetatud. Schiff on leidnud veel üht dominantset päritavat faktorit H, mis esineb ligikaudu 68%-il isikuist. Samuti leidis ta faktori, mida nimetas G, mis esineb kuni 95%-il inimesist ja mida seetõttu kergesti võib mitte märgata, sest immuunseerumi absorptsioonil kaob selle antikeha kergesti, kuna faktorist vaba verd on harva. Selle faktori juures on huvitav, et absorptsioon toimub siin alati, agglutinatsioon aga ainult siis kui isik omab üle selle retseptori A või B.

Üle selle on täheldatud veel teisigi faktoreid. Nii Landsteiner'i, Levine'i ja Janes'i poolt faktor, mida tõestati inimese seerumiga, kellele mitu korda tehti transfusiooni ja teisi.

Kui peatuksime veel seroloogilisel differentseerimisel, siis nägime juba, et A<sub>1</sub> ja A<sub>2</sub> neljagrupilisele süsteemile juurde võttes saaksime kuus seroloogilist tüüpi. Kui arvestaksime ka M ja N, siis saaksime juba 18 tüüpi. Need oleksid: 1. — OM. 2. — ON. 3. — OMN. 4. — A<sub>1</sub>M. 5. — A<sub>1</sub>N. 6. — A<sub>1</sub>MN. 7. — A<sub>2</sub>M. 8. — A<sub>2</sub>N. 9. — A<sub>2</sub>MN. 10. — BM. 11. — BN. 12. — BMN. 13. — A<sub>1</sub>B,M. 14. — A<sub>1</sub>B,N. 15. — A<sub>1</sub>B,MN. 16. — A<sub>2</sub>B,M. 17. — A<sub>2</sub>B,N. 18. — A<sub>2</sub>B,MN. Cromé on toonud ka nende tüüpide protsentuaalse sagesuse. Ühes faktoriga P oleks tüüpide arv juba 36 jne. Kui arvestada juurde ka faktoreid H ja G ning teisi seni avastatud faktoreid, siis võiks juba arvestada ligemale tuhande seroloogilise tüübiga. See seroloogilisesse tüüpidesse jaotamine lubab eeldada ka seroloogilisele individualiteedi diagnoosimisele lähinemist.

Mis puutub forensilisse kasutamisse, eriti paterniteedi küsimusis, siis omavad gruppide O, A, B ja AB kõrval tähtsuse, nagu öeldud, A<sub>1</sub> ja A<sub>2</sub> ning eriti faktorid M ja N.

Arvestades Saksamaal esinevat faktorite M ja N geneetilist vahet, arvestab Schiff seal valesti ülesantud isasuse puhul eitamiste võimalusiga 18,6%, see tähendab iga

kuuendat volesti ülesantud isa võiks M,N põhjal kindlaks teha. Vanad veregrupid O, A, B ja AB võimaldasid seda 17,23%. Siit on näha, et kui kasustada nii vanu veregrupe kui ka faktoreid M ja N, siis suureneks eitamiste võimalus õige tugevasti. See arv ei tõuse küll mitte mõlema % summa võrra, sest tuleb maha arvata neid juhte, kus eitamine toimub korraga mõlema süsteemi alusel. Siiski teeks see eitamiste kogusumma näit. Berliini kohta 33%. Iga kuuenda isiku asemel võib seega nüüd iga kolmas isaksolemise kahtlustusest valed süüdistusel kõrvaldatud saada.

See arv suureneb nagu tähendatud veelgi A<sub>1</sub> ja A<sub>2</sub> läbi, mis võimaldavad üksi eitamisi teoreetiliste arvutuste järgi 3%-il juhtudest.

Kui vaadelda praktilisi tulemusi kohtulikel juhtudel ja võrrelda neid teoreetiliste arvudega, siis annab see ligikaudse pildi sellest, kui sageli esinevad üldse valed süüdistused. Sch iff sai Saksamaal 1051 asjas M ja N põhjal eitamisi 8,9% ja vanade gruppide põhjal 7,6%, kokku mõlema järgi 14,7%. Teoreetiliselt oleks võinud eitamisi olla, kui süüdistused oleksid olnud valed O, A, B ja AB põhjal 17,23%, M ja N põhjal 18,6%, kokku 33%. Tegelikult saadud arvud näitavad seega, et ligikaudu 40—50%-il juhtudest esinetakse seal valesüüdistusiga, see tähendab, ei ole tegemist bioloogilise isasusega Umbes samasugune % valesüüdistusi esineb ligikaudselt ka Rootsisis ja Taanis. Mida vähem on tegelik eitamiste arv, seda vähem esineb valesüüdistusi. Kui vaatleme meie seniseid tulemusi, siis on meil tegelikult esinevad isasuse eitamiste arvud võrreldes oodatavaiga suhteliselt eelpooltooduga veel pisut vähemad ja lubavad ehk oletada, et meie kohtujuhtudel nõudmised põhjendamatu süüdistusiga esinevad harvemini.

#### Kirjandus.

Akune, M.: Z. Immun.-forschg. 71, (1931); sealsamas 73, (1931). — Blaurock, Günter: Münch. med. Wschr. 1932 II; Z. Immun.-forschg. 79, (1933). — Crome, W.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. 20, (1933); sealsamas 21, (1933). — Friedenreich, W.: C. r. Soc. Biol. Paris 106, (1931);

Z. Immun.-forschg. **71**, (1931). — Klopstock, Alfred.: Z. Immun.-forschg. **74**, (1932). — Laubenheimer, K.: Med. Klin. **1933 I**. — Lehmann-Facius: Klin. Wschr. **1932 II**. — Mayser, Hans: Ärztl. Sachverst. Ztg. **38**, (1932). — Nicoletti, Ferdinando: Riv. Pat. sper. **10**, (1933). Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **21**, (1933). — Schiff, F.: Klin. Wschr. **1927 I**; Dtsch. Z. gerichtl. Med. **18**, (1932); Acta soc. medic. fenn. Duodecim. **A 15**. (1932); Dtsch. Z. gerichtl. Med. **20**, (1933); sealsamas **21**, (1933). — Thomsen, Oluf: Z. f. Rassenphysiol. **3**, (1931); Ugeskr. Laeg. **1932**. Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **20**, (1933); Acta soc. medic. fenn. Duodecim **A 15**. (1932); — Hosp. tid. **1933**. Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **21**, (1933). — Wiener, Alexander S, Rothberg, Sidney and S. A. Fox: J. of Immun. **23**, (1932). Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **21**, (1933). — Wolff, Erik u. Jonsson, Bengt: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **22**, (1933).

---