

D^U

Zayıf
Kısmi
Varyant

D

Sonuç Atama ve Transfüzyon için Kan Seçimi



Dr. İsmail Yaşar AVCI
Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Enfeksiyon Hast. & Kl.Mik. AD

İçerik

- Tanım
- Rh Genetiği
- Rh Antijeni
- Terminoloji
- Zayıf D Genetiği
- Moleküler Yapı
- DEL
- Kısmi D
- Sonuç Atama
- Diğer Varyasyonlar
- RhD Antijeni reaktifleri
- RhD Antikorları
- Anti-D ile Transfüzyon Reaksiyonu

Tanım

RhD antijeninde;

**Üretim azlığı,
Pozisyon etkisi
Antijenik epitop eksikliğine**

bağlı serolojik olarak

RhD antijeninin saptanamaması

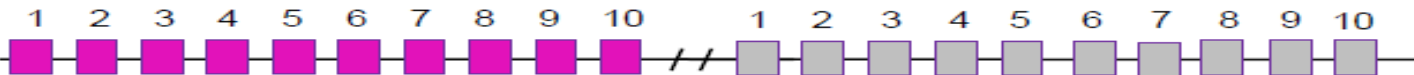
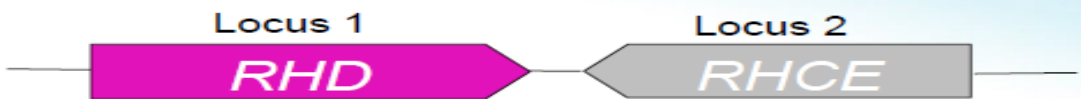
veya

Zayıf reaksiyon vermesi

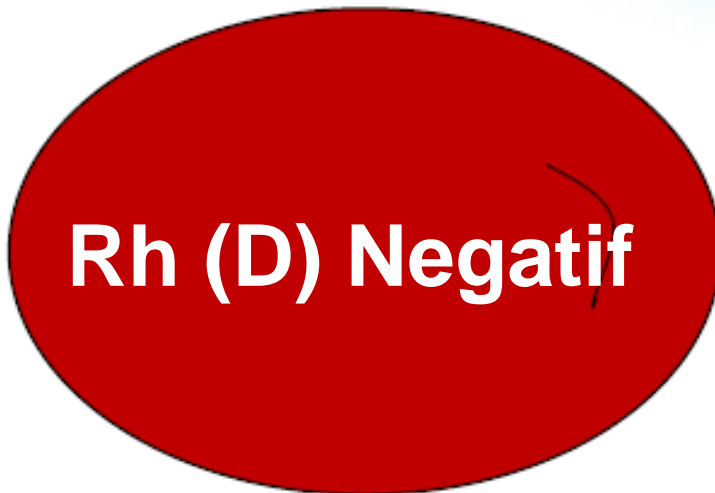
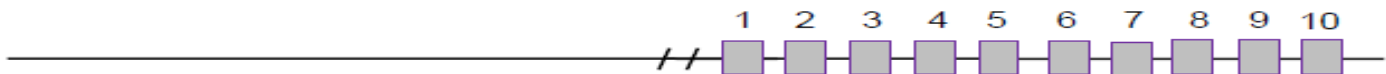
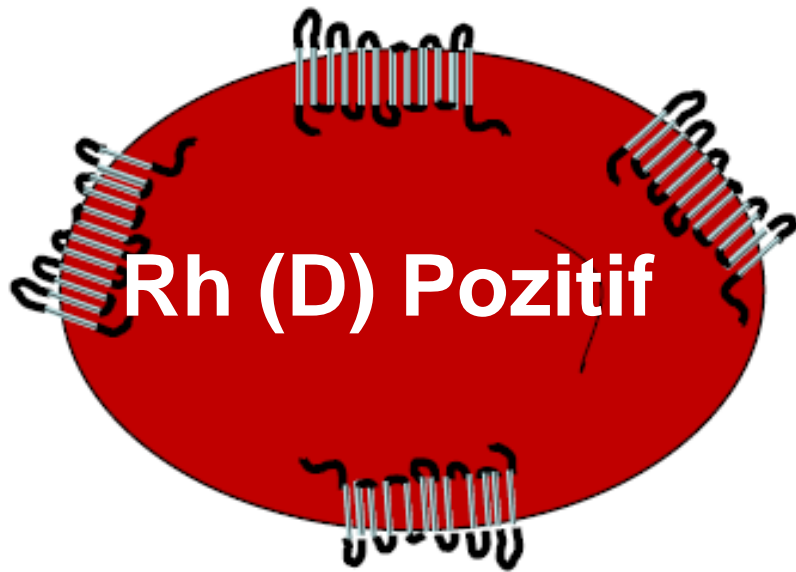
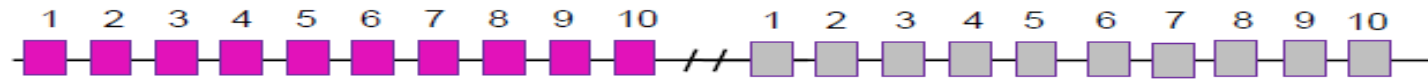
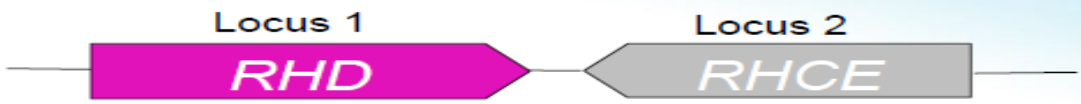
durumudur.

Rh Genetiği

- Rh lokusu 1.kromozomda bulunmaktadır.
- İki tane birbiri ile yakın ilişkide gen bulunmaktadır. %93 - %98 ortak, kodlayıcı 20 exondan oluşur.

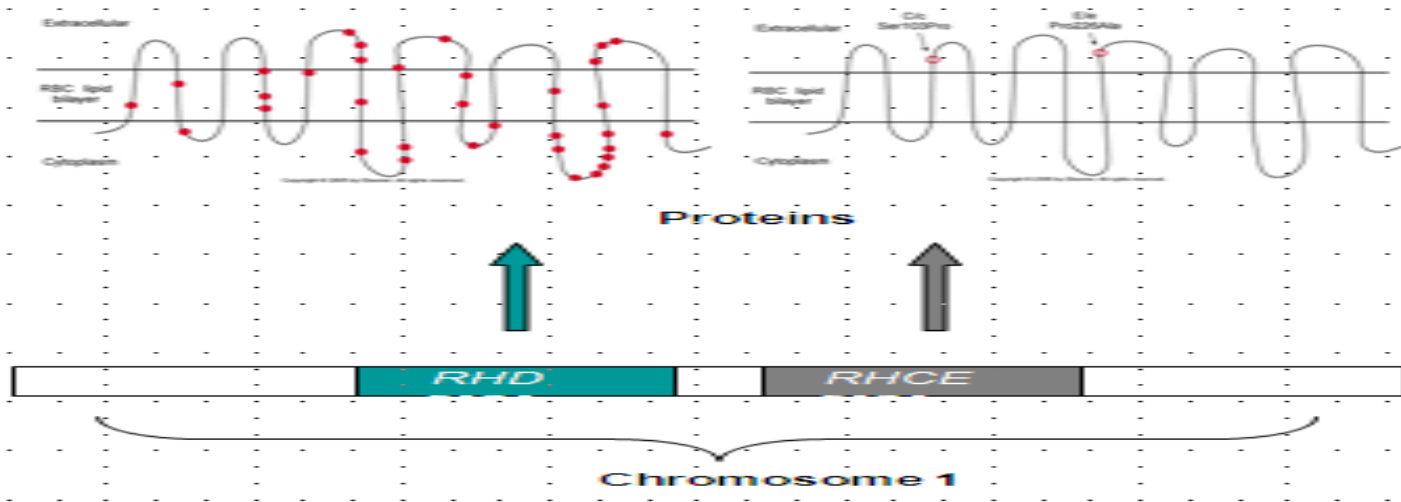


- RHD geni “D” antijenini üretirir yani RhD (+)’liğini belirler.



Rh antijeni

- Transmembran polipeptididir.
- Eritrosit membranının yapısal parçasıdır.
- RHD ve RHCE geninin her ikisi de 417 aminoasitlik bir protein sentezlerler.



- Bu iki protein arasında sadece 44 bazlık bir farklılık mevcuttur.
- Farklı monoklonal antikolar ile 30'dan fazla "D" antijenik epitopu tanımlanmıştır.

Zayıf D = D^u

- Genetik olarak Rh(D) pozitif
- IgM anti-D serumları ile saptanamayan IgG antijeni ile saptanbilen “D” antijeni
- “D” antijenin ekspresyonunda zayıflık söz konusu
- **İndirekt Antiglobulin Testi** ile saptanabilir.

D^u ? = Zayıf D ?

- Güncel terminolojide
“Varyant D”
- Görülme sıklığı % 0.2 - %1
- Zayıf D eritrositler normal Rh(D) pozitif hücrelerden daha az sayıda “D” antijenine sahip
- Rh (D) Negatif bireylerde anti-D üretimini uyarabilir.
- “D” antijeni ile karşılaştığında nadiren anti-D oluşur.

Zayıf D Genetiği

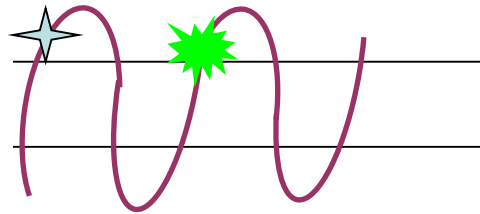
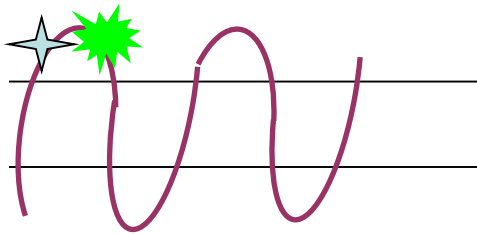
- Genetik geçişi vertikaldir
Nesilden nesile aktarılabilir.
- Ya
“D” antijeninin zayıflaması
pozisyon etkisi ile olabilir.
 - Trans pozisyonda “C”
- Ya da
Eritrosit yüzeyinde
“D” antijen sayısı azdır.

Pozisyon Etkisi (Ceppelini Etkisi)

Trans pozisyonunda "C"

D c e / d C e

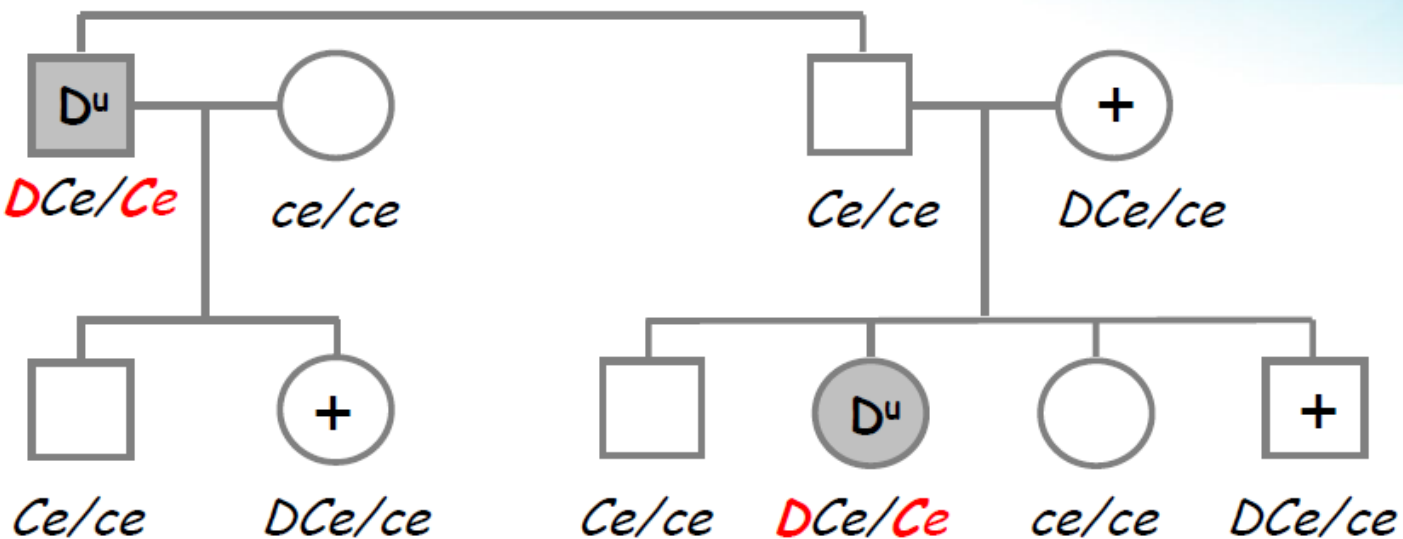
 Zayıf D

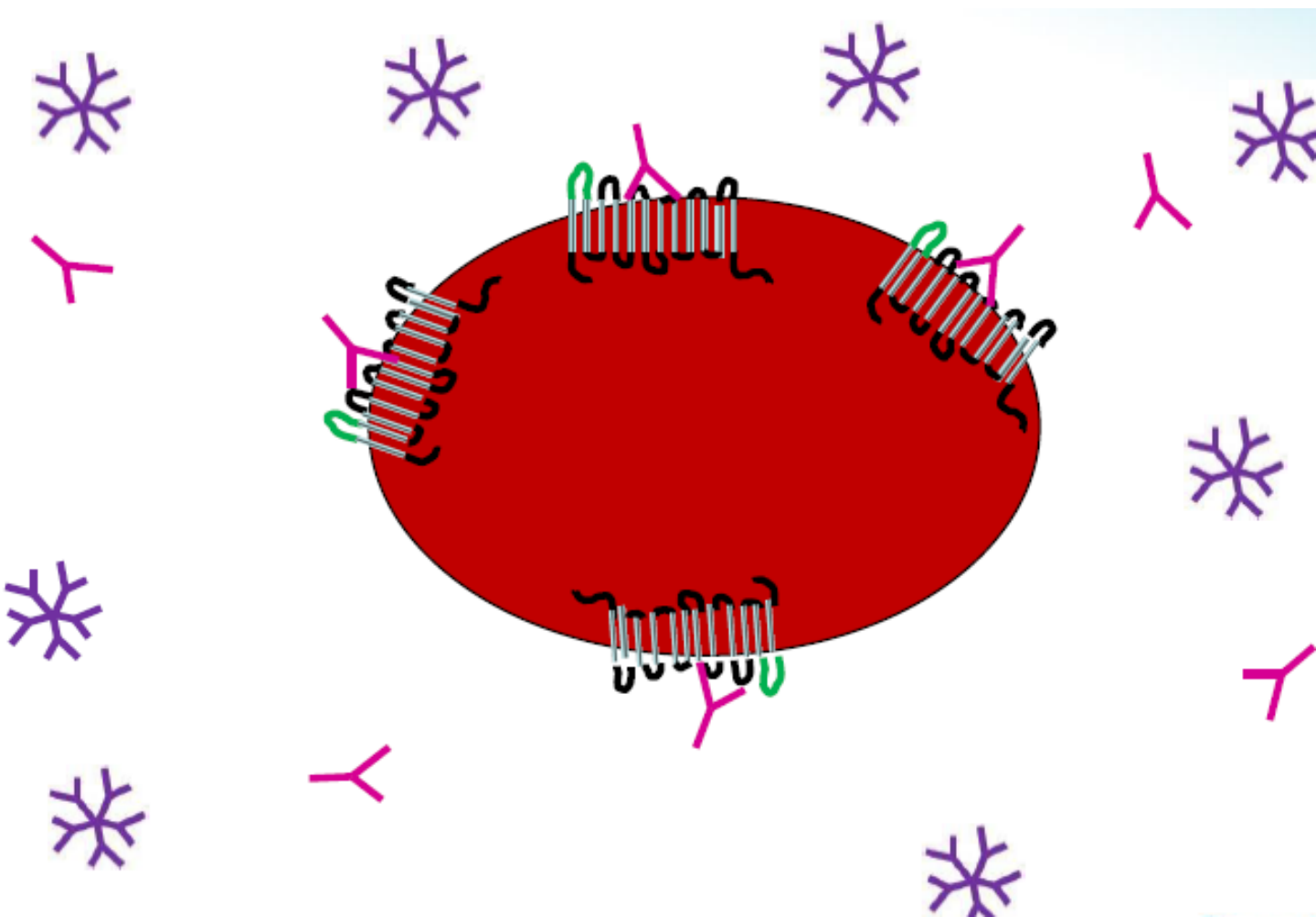
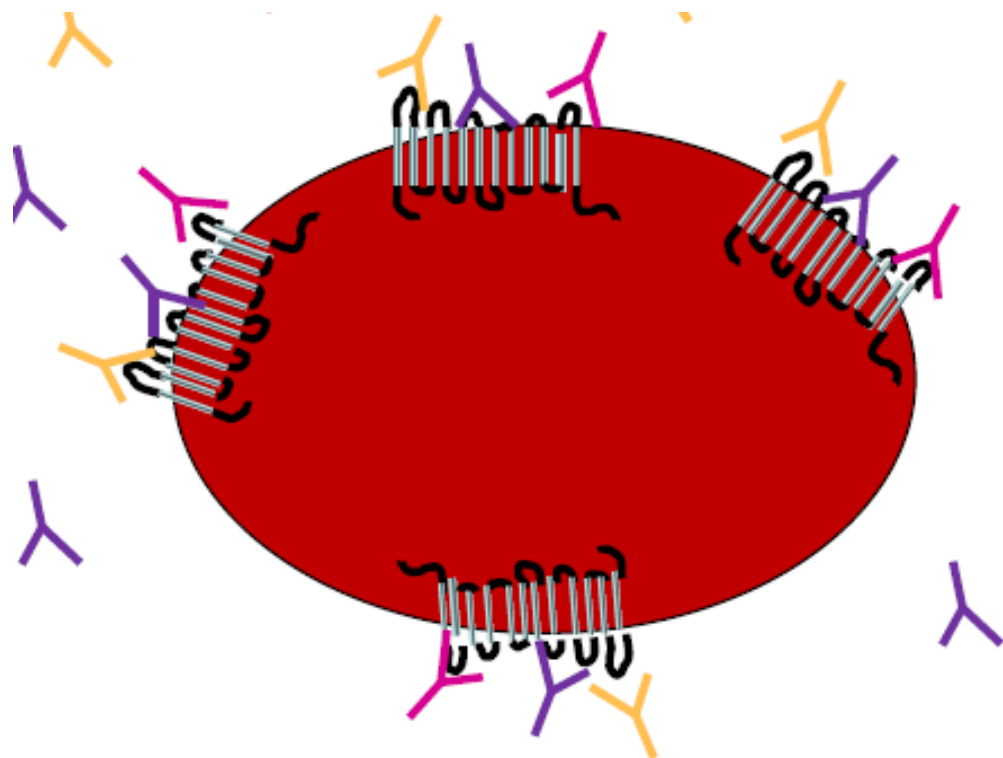


Cis pozisyonunda "C"

D C e / d c e

Zayıf D
etkisi yok

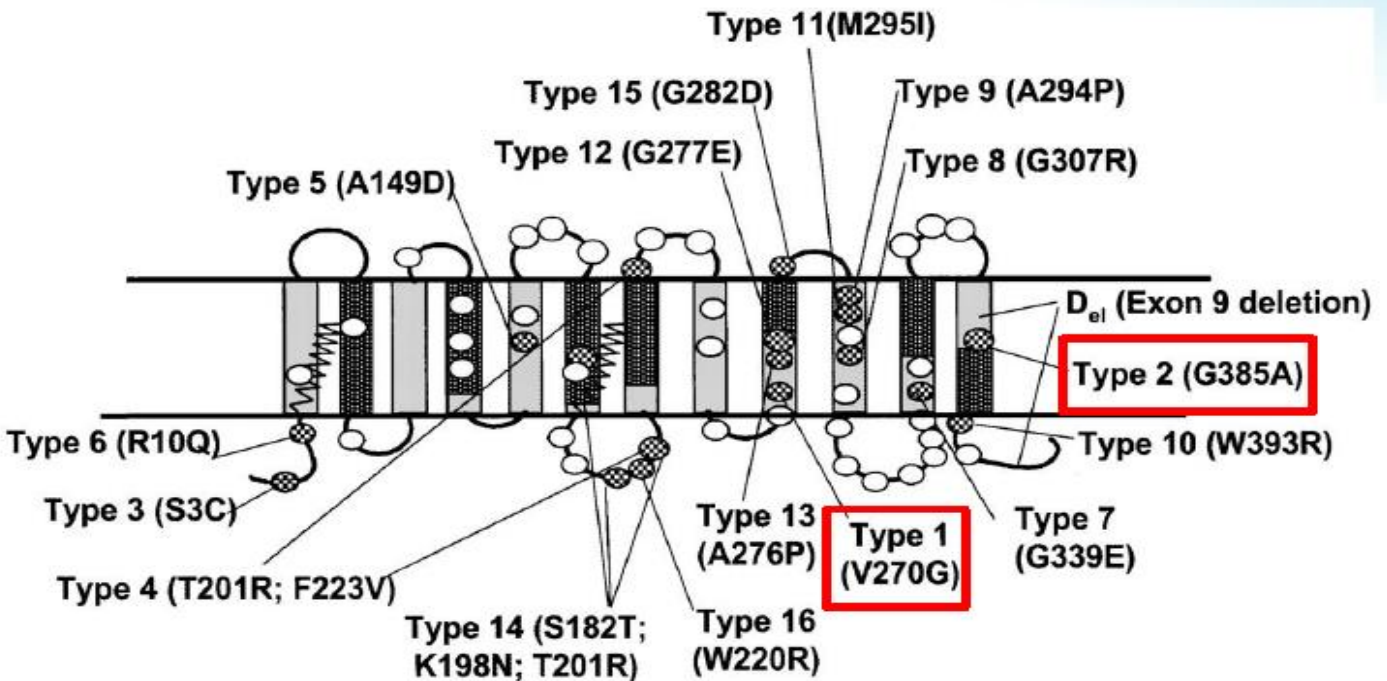




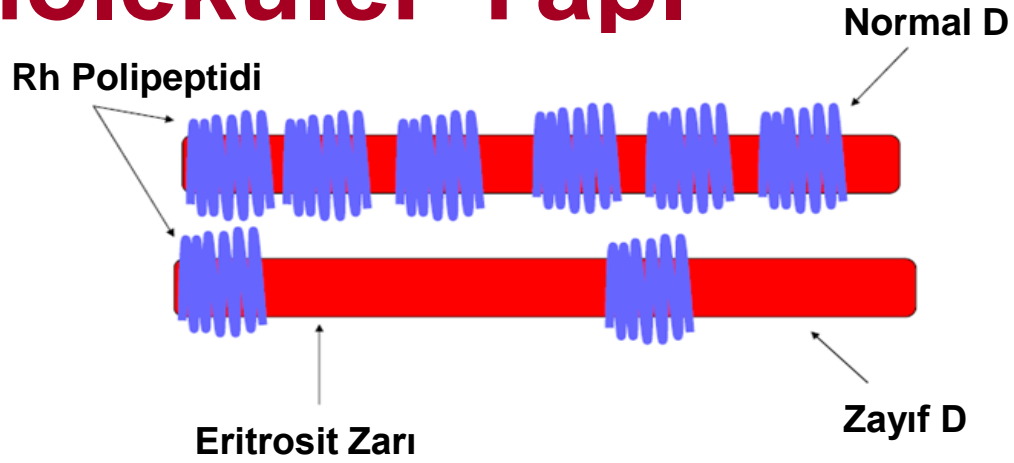
Moleküler Yapı

80'den fazla genotip alleli,
Tek amino asit değişimi
% 93'ü Tip1, Tip2, Tip3
Bu tipler "D" antijeni ile
karşılaştığında anti-D oluşmaz.

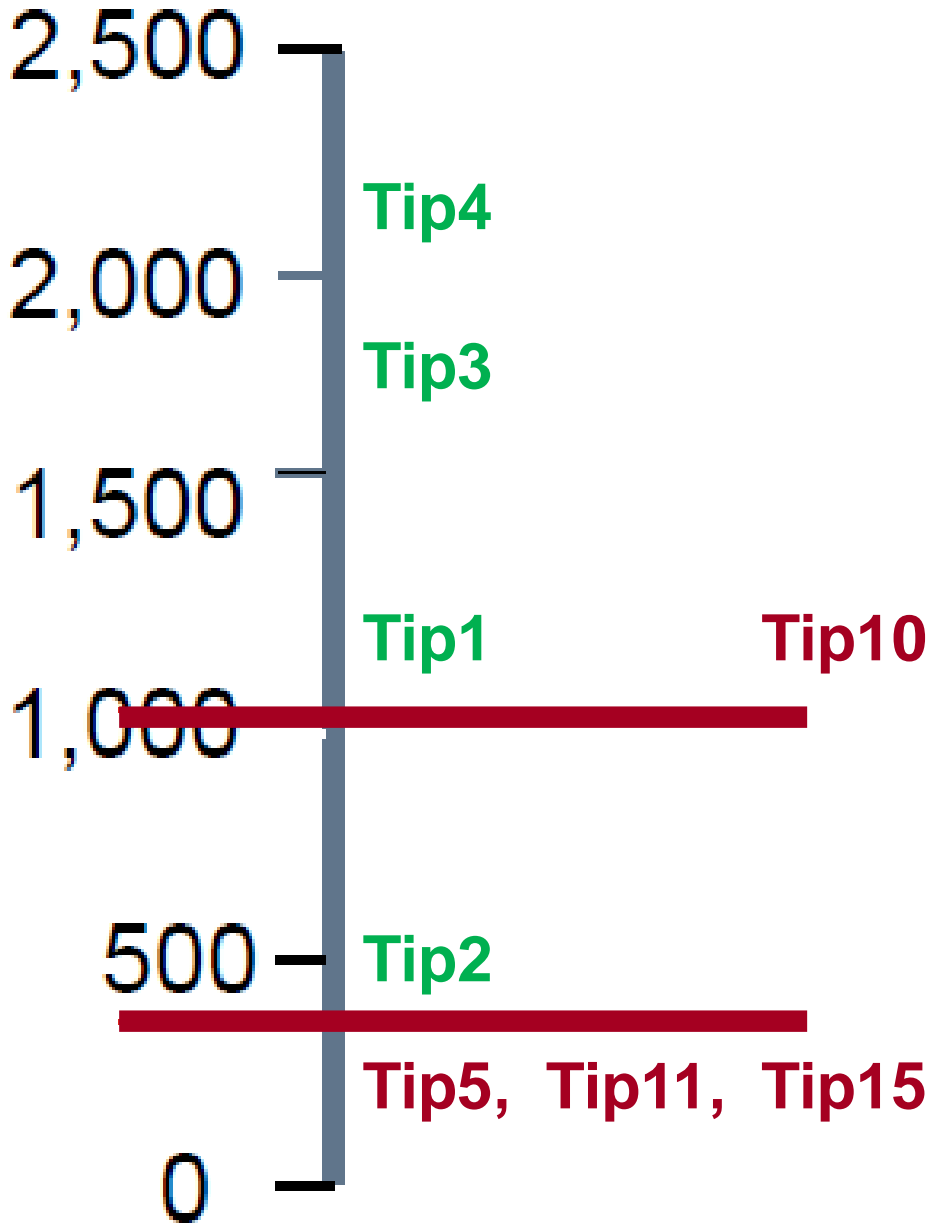
Tip4.2, Tip5, Tip11, Tip15,
Tip19, Tip20 "D" antijeni ile
karşılaştığında anti-D oluşur.



Moleküler Yapı

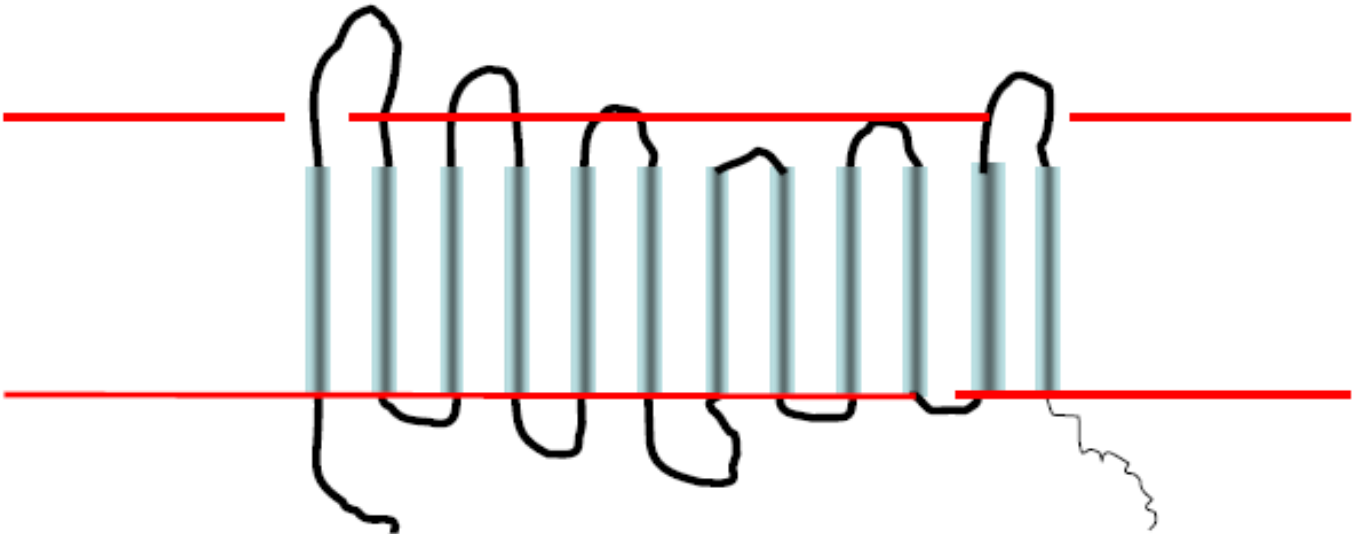


Eritrosit Üzerindeki Antijen Sayısı

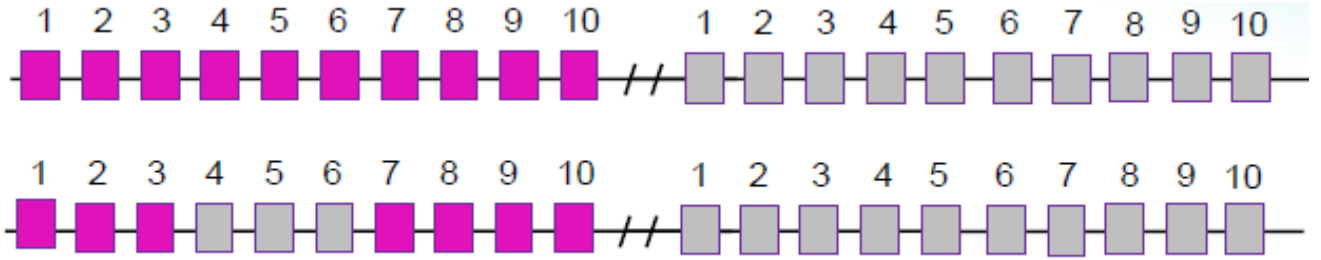


Del = DEL

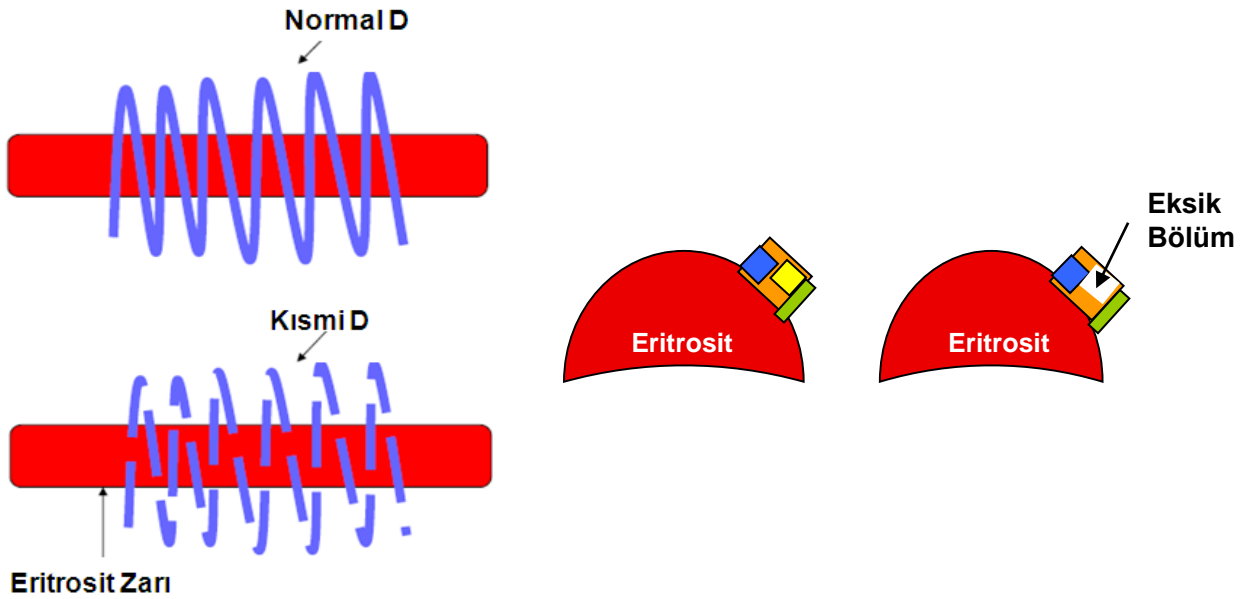
- Zayıf D'nin çok zayıf formu
- Antijen sayısı çok az (22-36)
- Adsorbsiyon - Elüsyon ile saptanır.



Kısmi D / Mozaik D



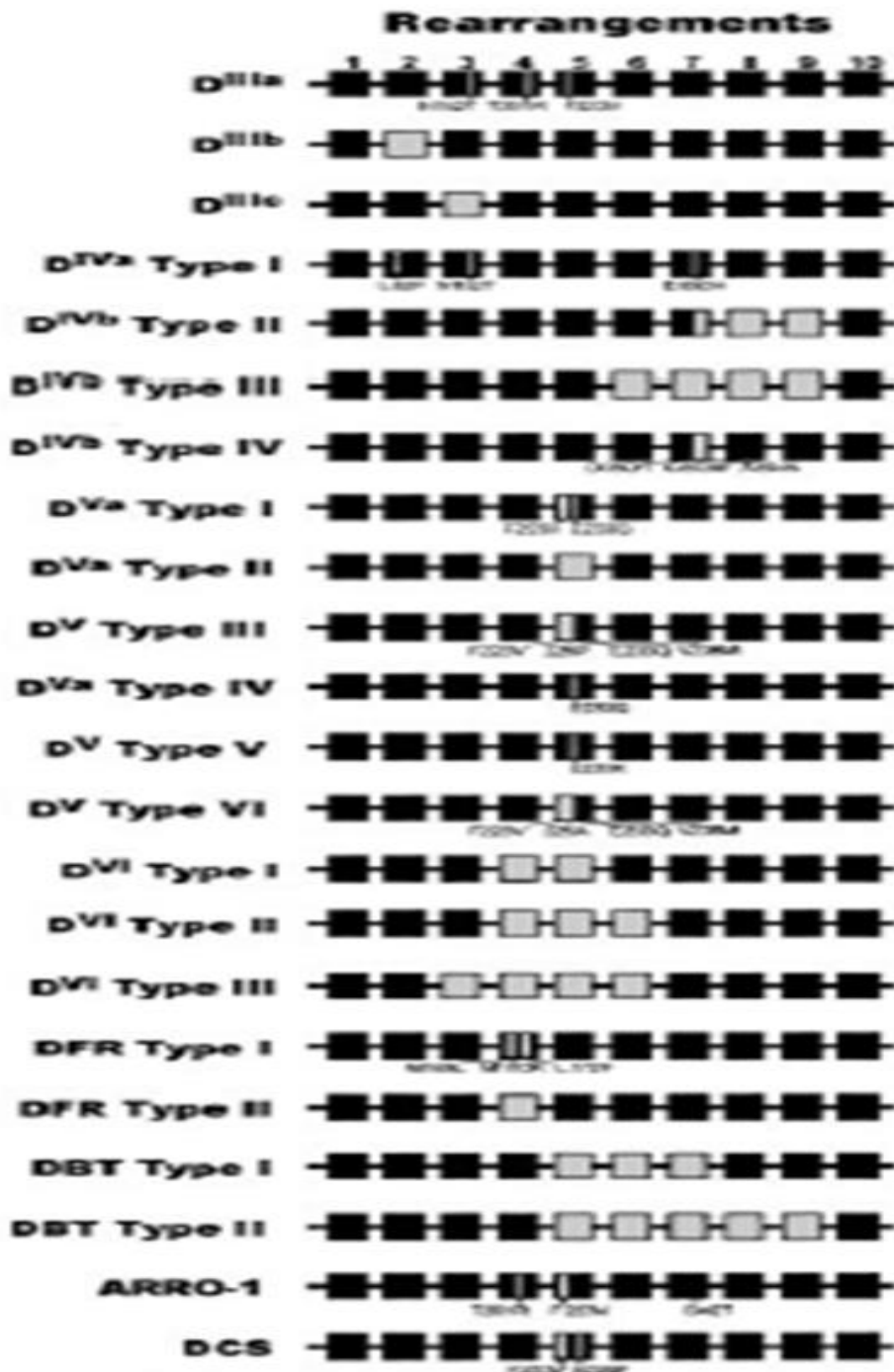
“D” antijeninin antijenik yapısını oluşturan bazı epitopların üretiminin eksik olması durumu



Bu hastalara Rh(D) pozitif eritrosit verilirse eksik epitopa karşı **anti-D** oluşabilir.

RHD

Genetik Değişimler



Zayıf D / Kısmi D

- Her iki varyant D arasındaki belirgin farklar

	Zayıf D	Kısmi D
Antijenik Yapı	Epitoplar tam, sayı eksik ya da pozisyonel etki	Bazı epitoplar eksik
“D” antijeni ile karşılaştığında Anti-D oluşma	Büyük çoğunluğunda Anti-D oluşmaz	Yüksek olasılıkla Anti-D oluşur
Genetik etki	1-2 aa değişimi Eritosit zarı içinde ya da sitoplazmik bölümde	Eritrosit zarı dışında aminoasit değişimi

Sonuç Atama

- Bağışçı
- Hasta
- Gebe
- Yeni doğan
- Rutin Gruplama

Bağışçı Zayıf D Sonucu

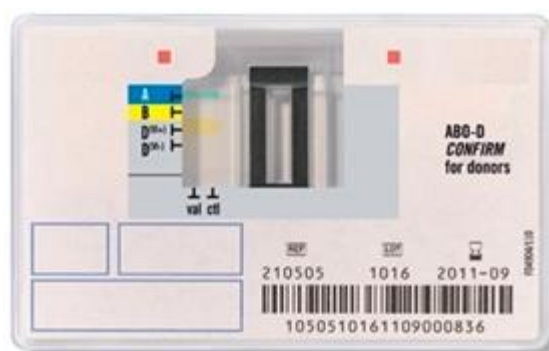
- Bağışçı “D” veya “zayıf D” pozitif ise RhD (+) kabul edilir.
- Bağışçı kan grubu RhD (-) bulunur ise **anti-human globulin** testi ile test tekrarlanır.
- Bununla sonuç yine negatif çıkarsa kişi Rh(-) kabul edilir.
- Genotipik inceleme ?
- Bu aşamalardan herhangi biri pozitif bulunur ise kişi RhD(+) kabul edilir.

Bağışçı Kısmi D Sonucu

- İlk kez bağış yapanlar DIV, DV ve **DVI** epitopları ile reaksiyona giren iki Anti-D ile araştırılır.
- İki monokol Anti-D kullanılır ise farklı klonlardan olmalıdır.
- Her ikisi de negatif çıkarsa kişi RhD(-), her ikisi de pozitif çıkarsa RhD(+) olarak etiketlenir.
- Bu aşamalardan herhangi biri pozitif bulunur ise kişi RhD(+) kabul edilir.

Bağışçı Kısmi D Sonucu

- Düzenli bağışçılarda DIV, DV ve DVI epitopları ile reaksiyona giren tek Anti-D ile araştırmak yeterlidir.
- DEL fenotipi **anti-human globilin** testi ile bile saptanamayabilir.
- Adsorbsiyon-Elüsyon yapılmalıdır.



ARTICLE IN PRESS

Transfusion and Apheresis Science xxx (2014) xxx–xxx



Contents lists available at ScienceDirect

Transfusion and Apheresis Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/transci



Review

Molecular *RHD* screening of RhD negative donors can replace standard serological testing for RhD negative donors

Peter Gowland^{a,1}, Christoph Gassner^{b,1}, Hein Hustinx^{a,1}, Martin Stolz^a, Jochen Gottschalk^b, Jean-Daniel Tissot^c, Jutta Thierbach^d, Andreas Maier^e, Sonja Sigurdardottir^b, Franziska Still^a, Stefano Fontana^a, Beat M. Frey^{b,*,1}, Christoph Niederhauser^{a,*,1}

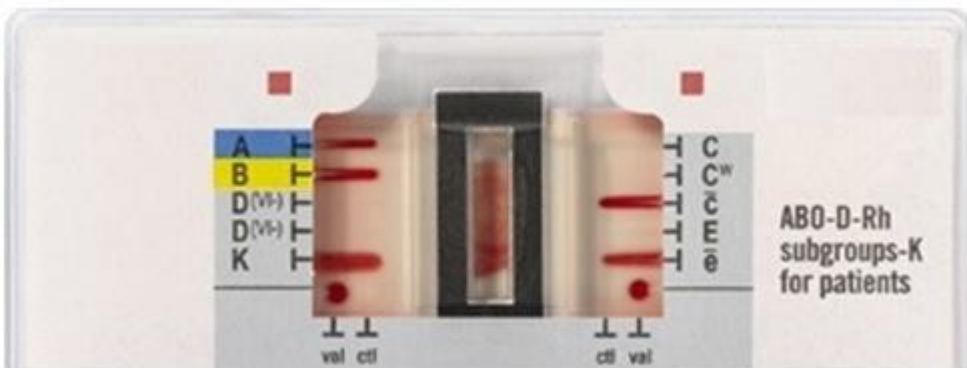
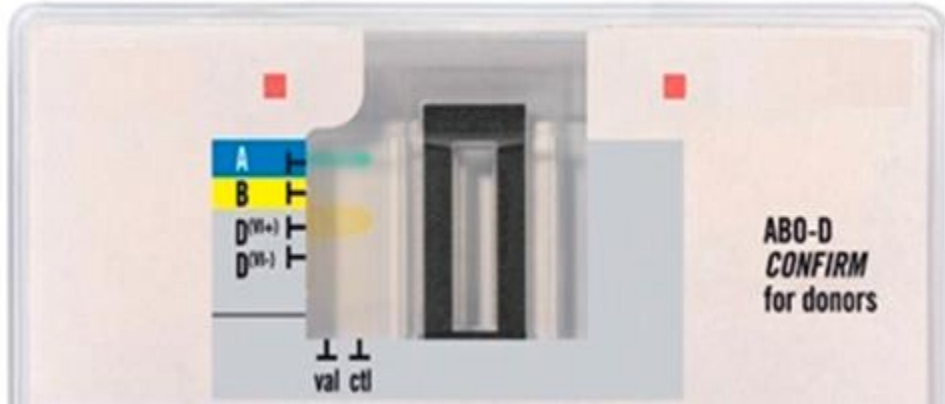
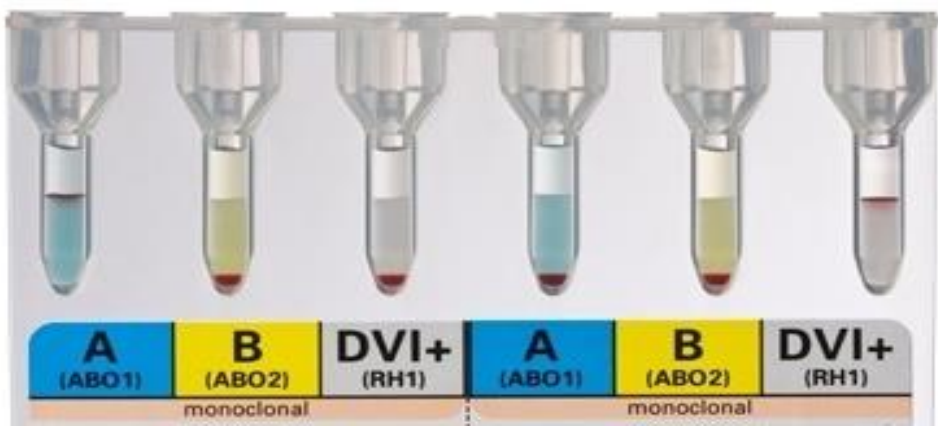
Alıcı Zayıf D Sonucu

- Alıcılarda zayıf D'nin çalışılması tartışmalıdır.
- C trans ve genetik zayıf D'de antijenin yapısı tam ancak sayı olarak azdır.
- “D antijeni ile karşılaşıldığında büyük çoğunluğunda anti-D gelişimi beklenmez.
- Tip, Tip2, Tip3 zayıf D olanlar stok yönetimi açısından RhD Pozitif kabul edilebilirler.

Alıcı Kısmi D Sonucu

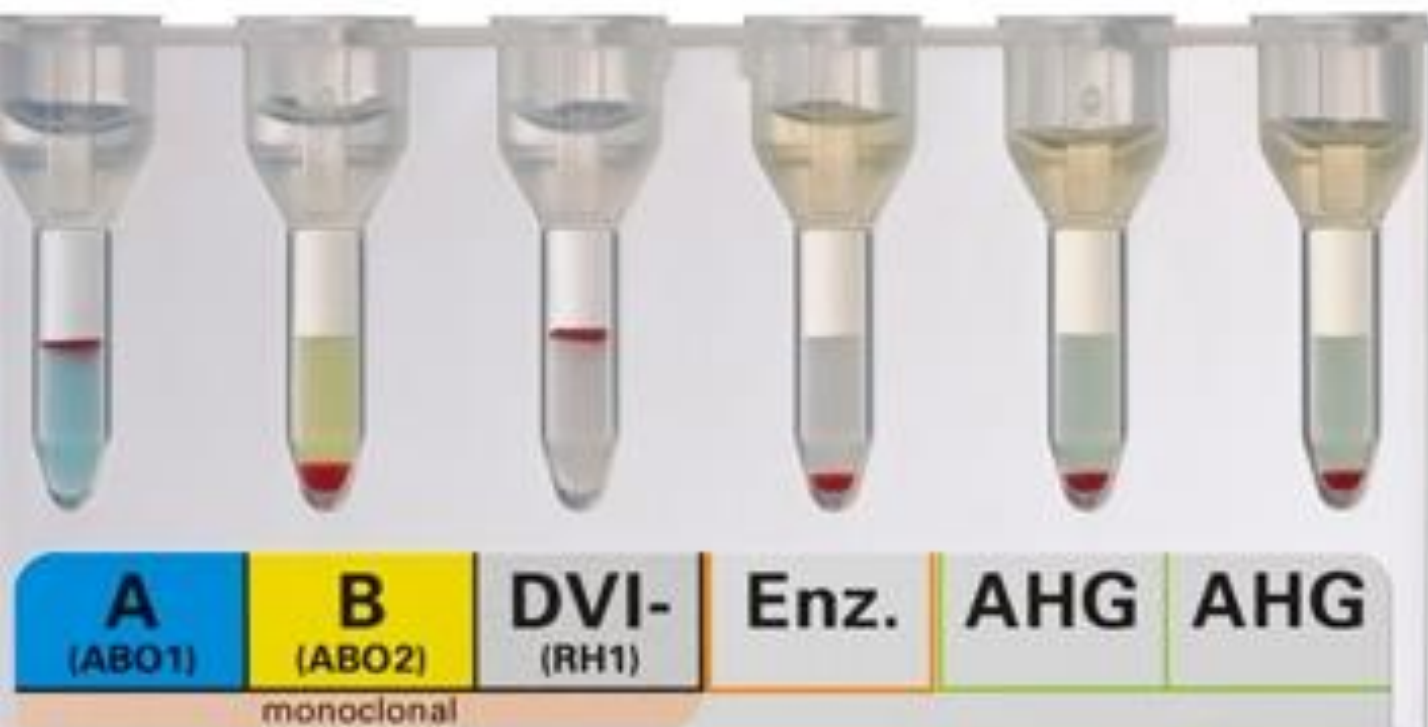
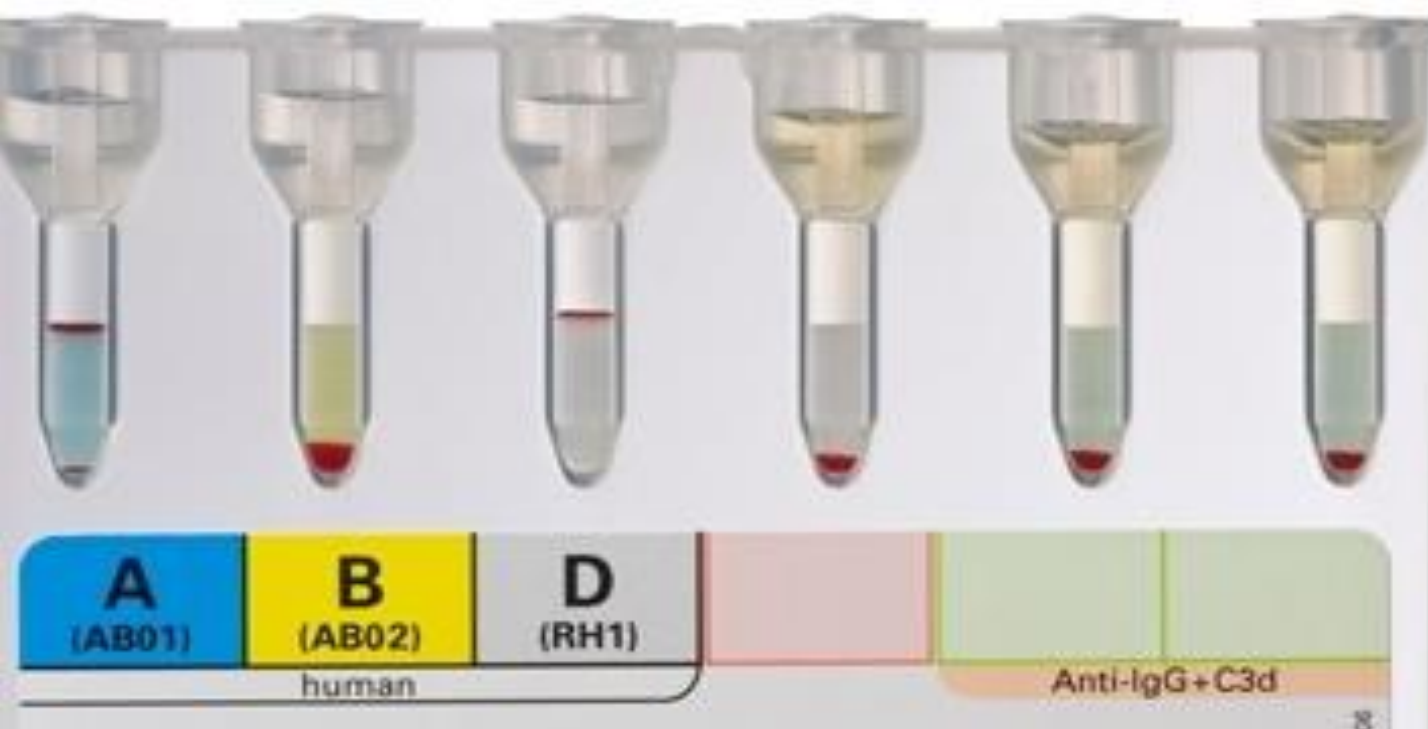
- Kısmi D çok nadirdir.
- Alıcılarda kısmi D araştırılmalıdır.
- “D” antijeni ile karşılaştığında anti-D gelişir.
- Bu kişilere Rh pozitif kan verilir ise reaksiyon oluşabilir.
- Ancak bu daha çok nadirdir.

Bağışçı



Alıcı

Cross-Match



Alıcı RhD Sonucu

- RhD (-) alıcılara rutin anti-D bakılması (DEL hariç) gereksizdir.

Tip Tayinin Yapılamıyorsa

“**ZAYIF D**” ve ya “**KİSMİ D**”

de olsa

TÜM ALICILAR Rh(D) NEGATİF

KABUL EDİLMELİDİR.

Gebe ve Yenidoğan Rh Sonucu

- **Gebelerde RhD durumunun belirlenmesi önemlidir.**
- Tüm RhD(-) ve varyant D(+) kişiler RhD immünizasyonu için adaydırlar.
- Anne zayıf D (Tip1, Tip2, Tip3 hariç) ve kısmi DVI epitopu eksik bulunursa Anti-D uygulaması gerekir.
- Annesi RhD (-) veya varyant D olanların bebeklerinde de varyant D araştırılması önemlidir.

Gebe ve Yenidoğan

Rh Sonucu

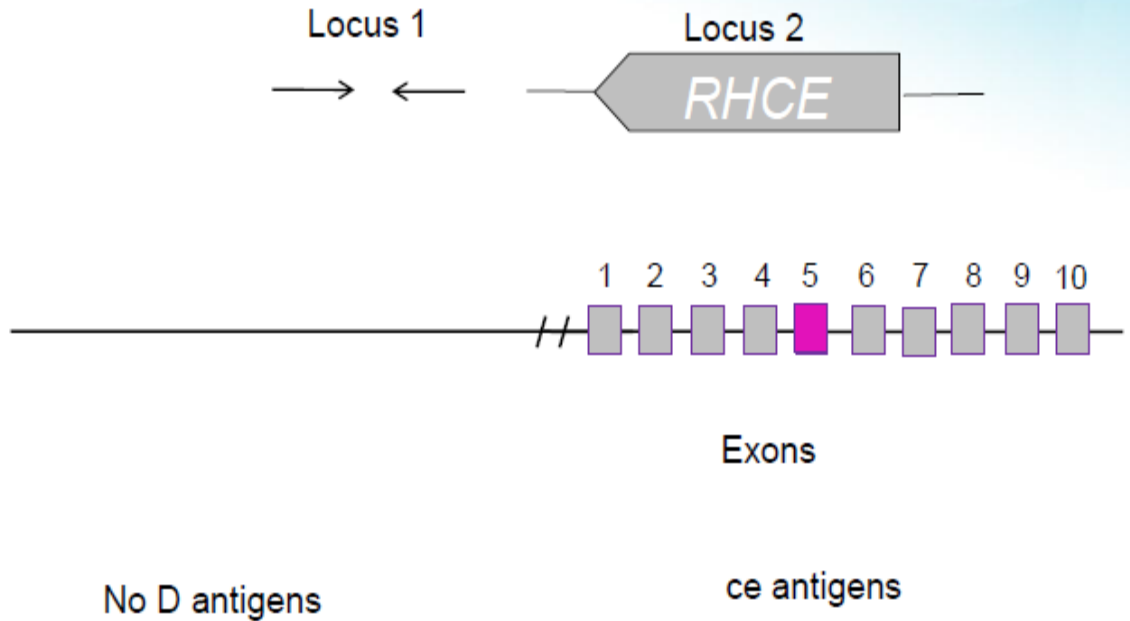
- Bazen bebeğin eritrositleri intrauterin olarak annenin ürettiği IgG karakterindeki anti-D antikorları ile kaplı olabilir.
- Bu antikorlar çok az antijenik bölgenin açıkta kalmasına neden olur ve RhD grubu saptanamaz.
- Eğer elüsyon yapılar, eritrositlere bağlanan antikorlar ayrılır ise RhD durumunu belirlemek mümkün olur.
- Anne ve bebeğe genotipik analiz ?

D-Delesyonu

- Eritrositler anti-E, anti-e, anti-C veya anti-c karşılaştıklarında reaksiyon bulunmaz.
- D-delesyonlu kan transfüzyonu yapılmalıdır. Allo antikor gelişebilir.
- **D- - veya -D-**

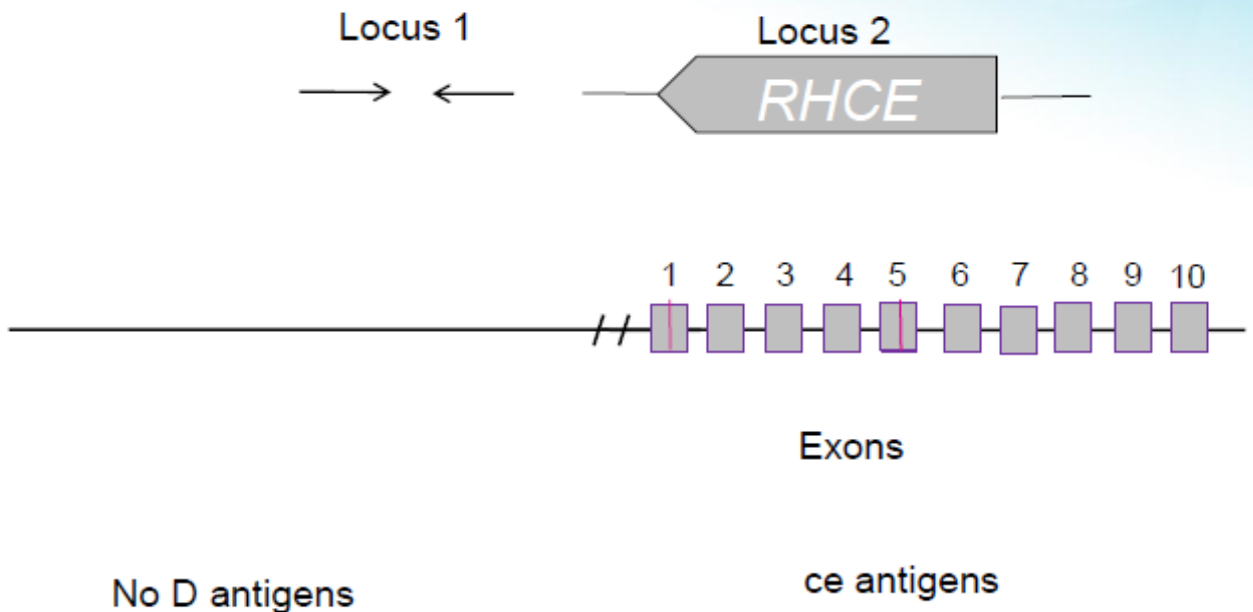
D^{HAR}

D epitopu RHCE geninde



D^{CF}

D epitopu RHce geninde



Rutin Grublama

Anti-D Reaksiyonu Zayıf mı?

Evet

HAYIR

≤50 Yaş, Kadın?

**RhD (+)
Raporla**

Evet

**RhD (-) Raporla
Doğrulama ?**

**Sık Transfüzyon
Adayı?**

Evet

**Monklonal ab
Genotipleme**

HAYIR

**RhD (+)
Raporla**

**Zayıf D Tip1-3
RhD (+)
Diğer Varyant
RhD (-)**

RhD antijeni reaktifleri

Salin içerikli

- İlk kullanılan IgM içeren reaktiflerdir.
- Avantajları:
IgG ile kaplı eritrositleri saptamada da yararlıdır.
- Dezavantajları:
Pahalı, inkübasyonu uzun, varyant D'yi tesbit etmez.

RhD antijeni reaktifleri

Yüksek protein anti-D içerikli

- Yüksek anti-D içeren insan plazmasından elde edilir.
- Dezavantajı:
Yalancı pozitifliği artırır.
Kontrol çalışması yapılmalıdır.
- Avantajı:
İnkübasyon süresini azaltır.
Zayıf D testini slide metodu ile yapabilme şansı taşır.

RhD antijeni reaktifleri

Kimyasal IgG anti-D içerikli

- Kimyasal etki ile antikorun relaks hale gelmesi ile eritrositler arasındaki ilişki daha düşük protein konsantrasyonunda da sağlanır.
- Hem slide hem de tüpte çalışılabilir. Sonuç pozitif bulunur ise gerçek aglütinasyon olup olmadığını kanıtlamak için saline ile test tekrarlanmalıdır. Spontan aglütinasyon oluşabilir.

RhD antijeni reaktifleri

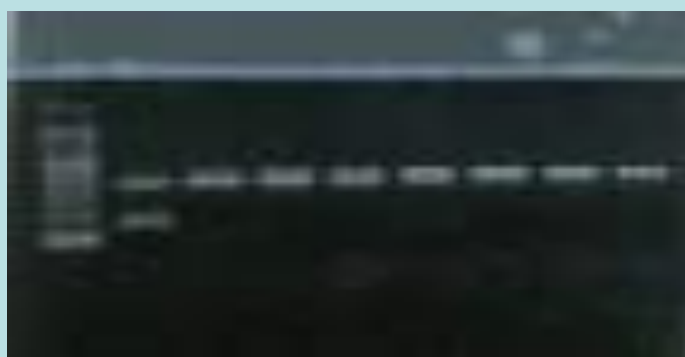
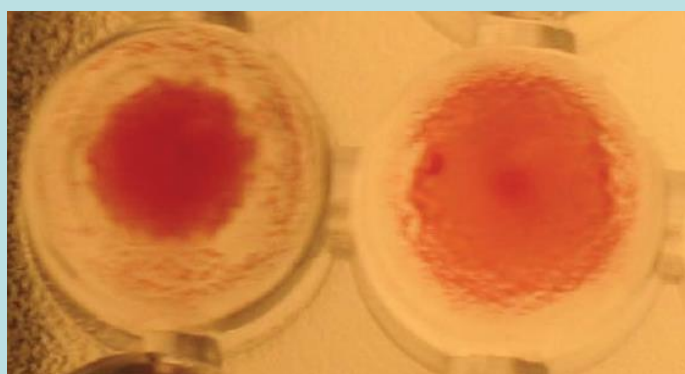
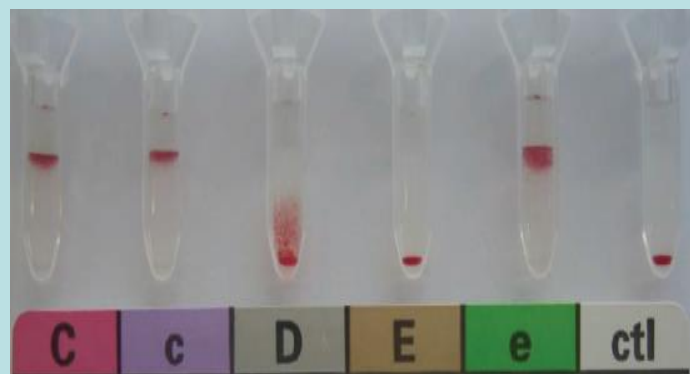
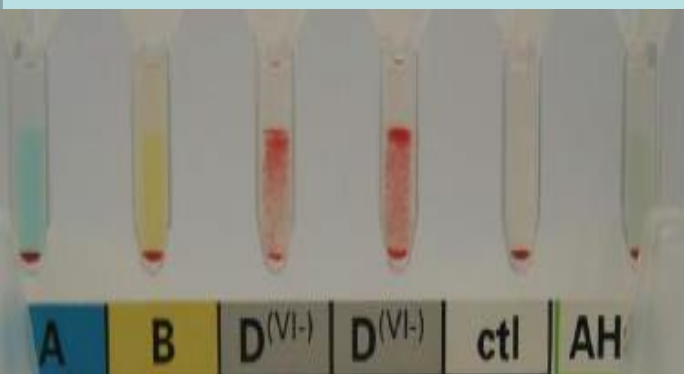
Monoklonal antikorlar içerikli

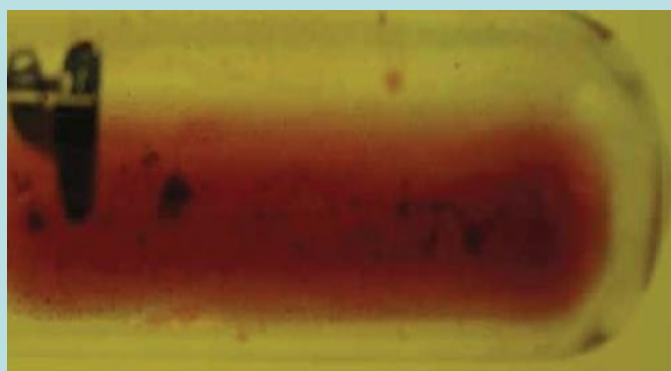
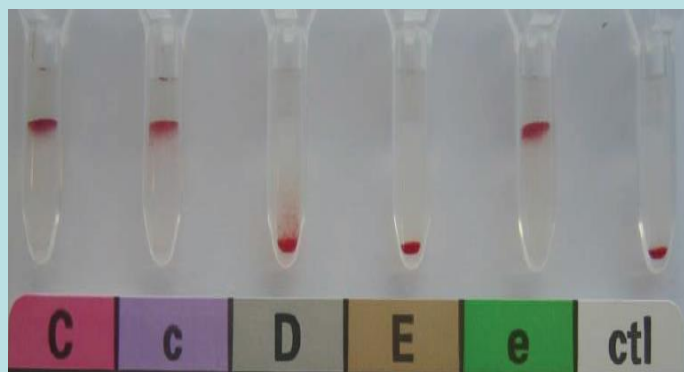
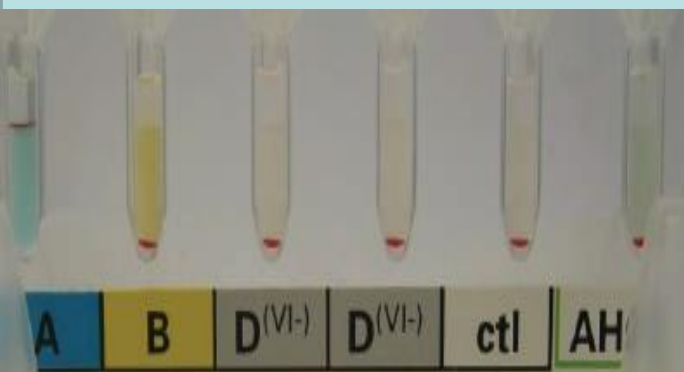
- Antikor üreten tek bir klondan oluşmaktadır.
- Üretimi arttırmak için hücreler myeloma hücreleri hibridize edilir.
- Tüp, slide, mikrokolonda kullanılabilir.



Anti-D cell line	Expected patterns of reactivity of different forms of partial D with the different monoclonal anti-D antibodies																Test results		
	Weak D type 1&2	DII & DNU	DIII	DIV	DV	DCS	DVI	DVII	DOL	DFR	DMH	DAR	DAR-E	DHK & DAU-4	DBT	Ro ^{Hu}	Pos Cont	Neg Cont	Pt
LHM76/58	+	+	+	+	+/0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	0	(+)/0	4	0	0
LHM76/59	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	4	0	3
LHM174/102	(+)/0	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	4	0	0
LHM50/28	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	4	0	0
LHM169/81	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0	4	0	0
ESD1	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	4	0	4
LHM76/55	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	4	0	3
LHM77/64	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/0	0	0	4	0	3
LHM70/45	(+)/0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
LHM59/19	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	(+)	0	(+)	+	+	0	4	0	0
LHM169/80	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0	4	0	0
LHM57/17	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	4	0	0







RhD antikorları

- RhD antikorlarının büyük bölümü **IgG** karakterindedir. 37 derecede optimum reaksiyon gösterirler.
- RhD antikorları gebelik veya transfüzyon sonucu maruz kalınan yabancı antijenlere karşı oluşur.
- 1 ml'den daha az eritrosit immünojenitenin oluşmasını sağlar.
- G1,G2,G3,G4 subtipinde olabilir ancak G1 ve G3 en önemli grubu oluşturur.

RhD antikorları

- RhD sensitizasyonunda da önce IgM yapısında antikorlar oluşur. Daha sonra IgG'ye dönüş gösterirler
- Sensitize olmuş kişiye az miktarda eritrosit verilse bile Anti-D üretimi artar
- Anti-RhD antikoru tespit edilen kişilere transfüzyon yapılacağı zaman antikor gösterilememiş olsa bile RhD negatif transfüzyon yapılmalıdır.

RhD'ye bağlı hemolitik reaksiyonlar

- Primer yanıt
İlk temastan 120 gün sonra
- Sekonder yanıt
2-7 gün sonra
- Ekstravasküler hemoliz
Açıklanamayan ateş, bilirubin yüksekliği, hemoglobinde azalma
- Direk coombs pozitif
IAT negatif
Eluate pozitif