
Weak D. *Ein Update*

Priv.-Doz. Dr. Franz F Wagner
Abt. Spenderlabor
Institut Springe
31830 Springe

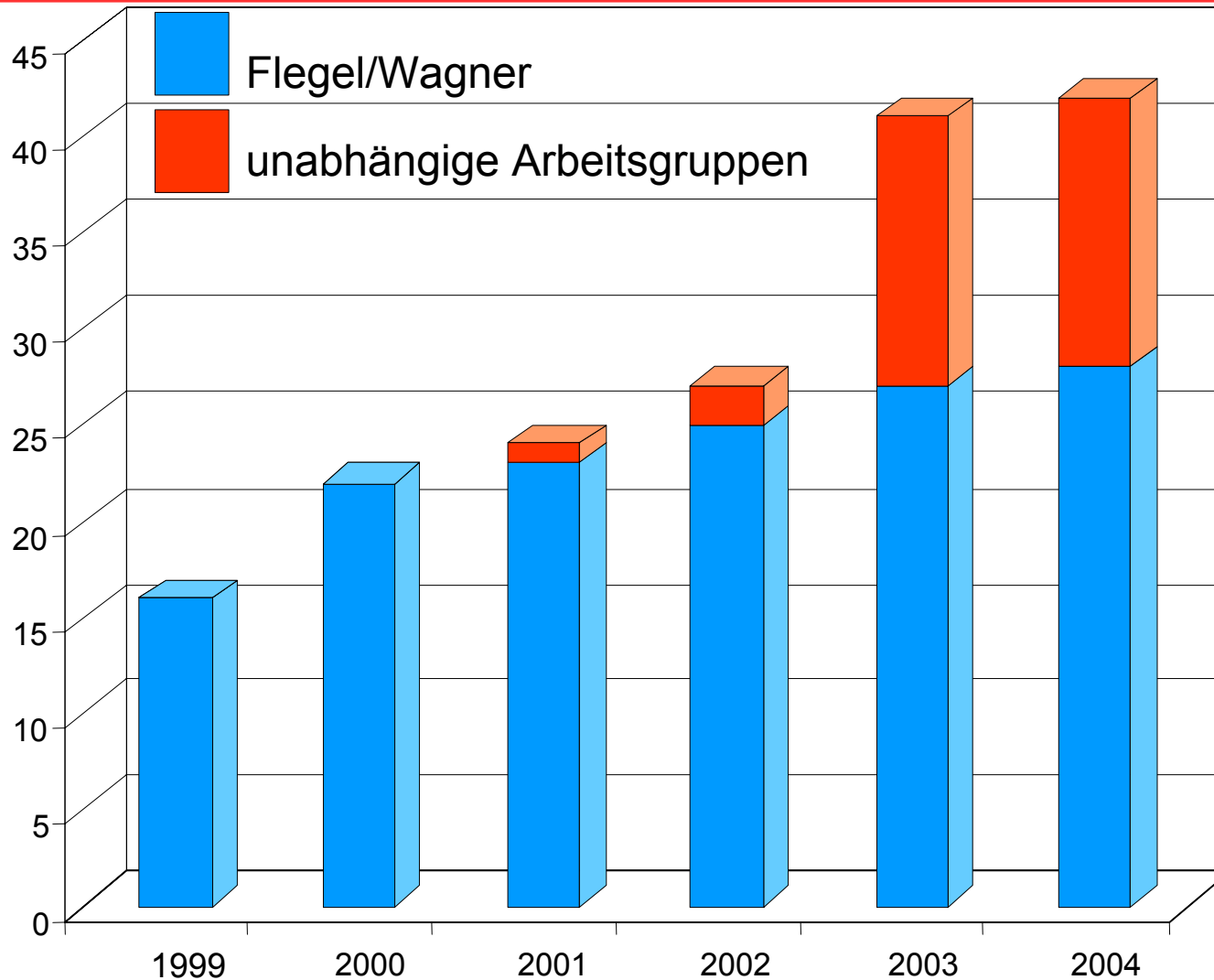
(Stand: Mai 2004)

Weak D. Ein Update

- Weak D Typen
- Molekulare Basis
- Häufigste Typen, Haplotyp-Assoziation
- Mechanismen der Antigenabschwächung
- Typ-spezifischer Phänotyp
- Immunisierungsrisiko
- Diagnostische Implikationen



Weak D Typen



Weak D Typen

- Blood 1999:
16 unterschiedliche weak D Typen
- Blood 2000:
Weak D Typ 17; 3 Untertypen von Typ 4
- Stand 5/2004:
42 weak D Typen



Weak D. Ein Update

- Weak D Typen
- **Molekulare Basis**
- Häufigste Typen, Haplotyp-Assoziation
- Mechanismen der Antigenabschwächung
- Typ-spezifischer Phänotyp
- Immunisierungsrisiko
- Diagnostische Implikationen



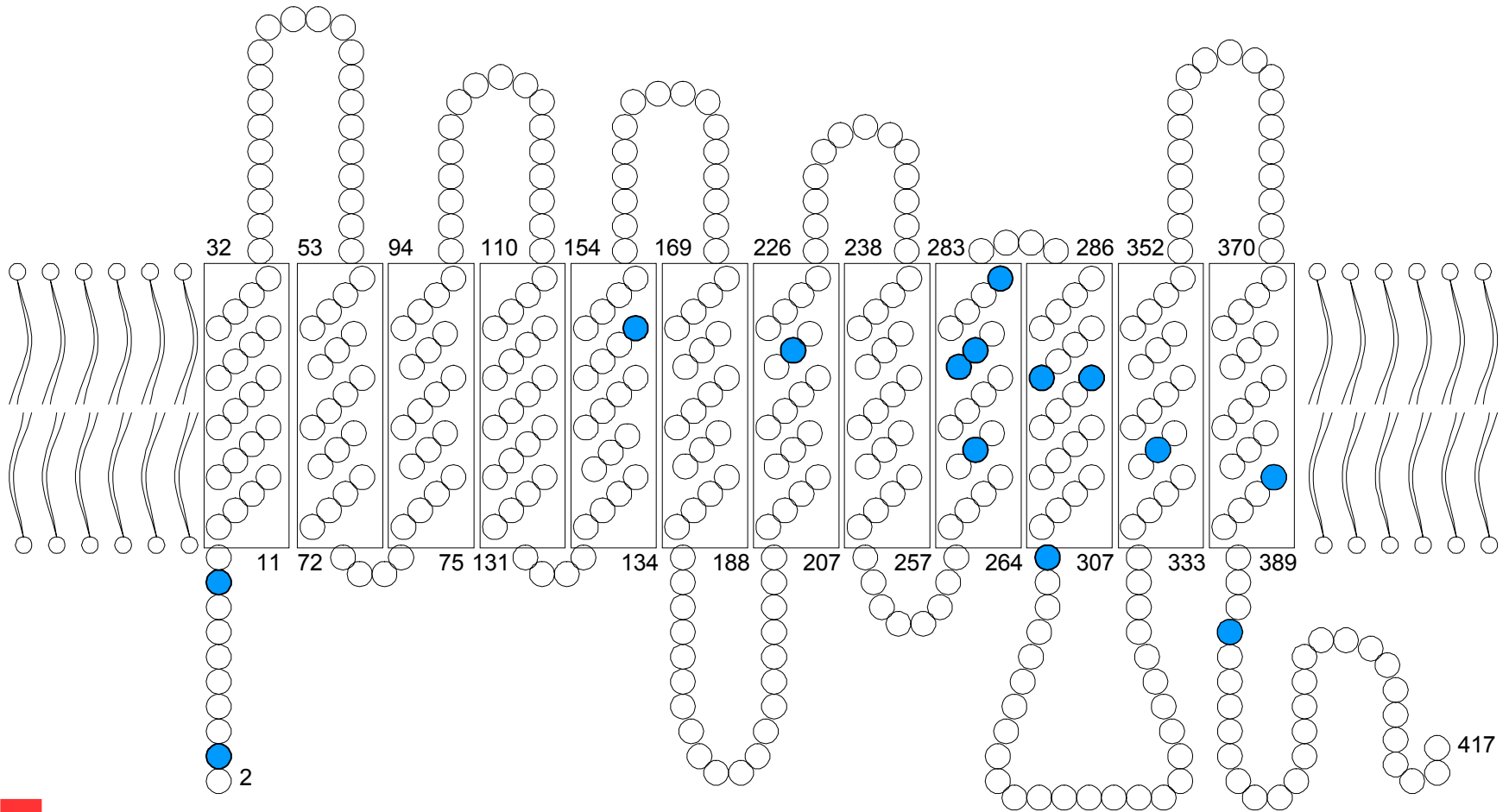
Molekulare Basis

- Häufigste molekulare Basis:
Substitution einer einzelnen Aminosäure
 - 1999: 14 der 16 bekannten weak D-Allele



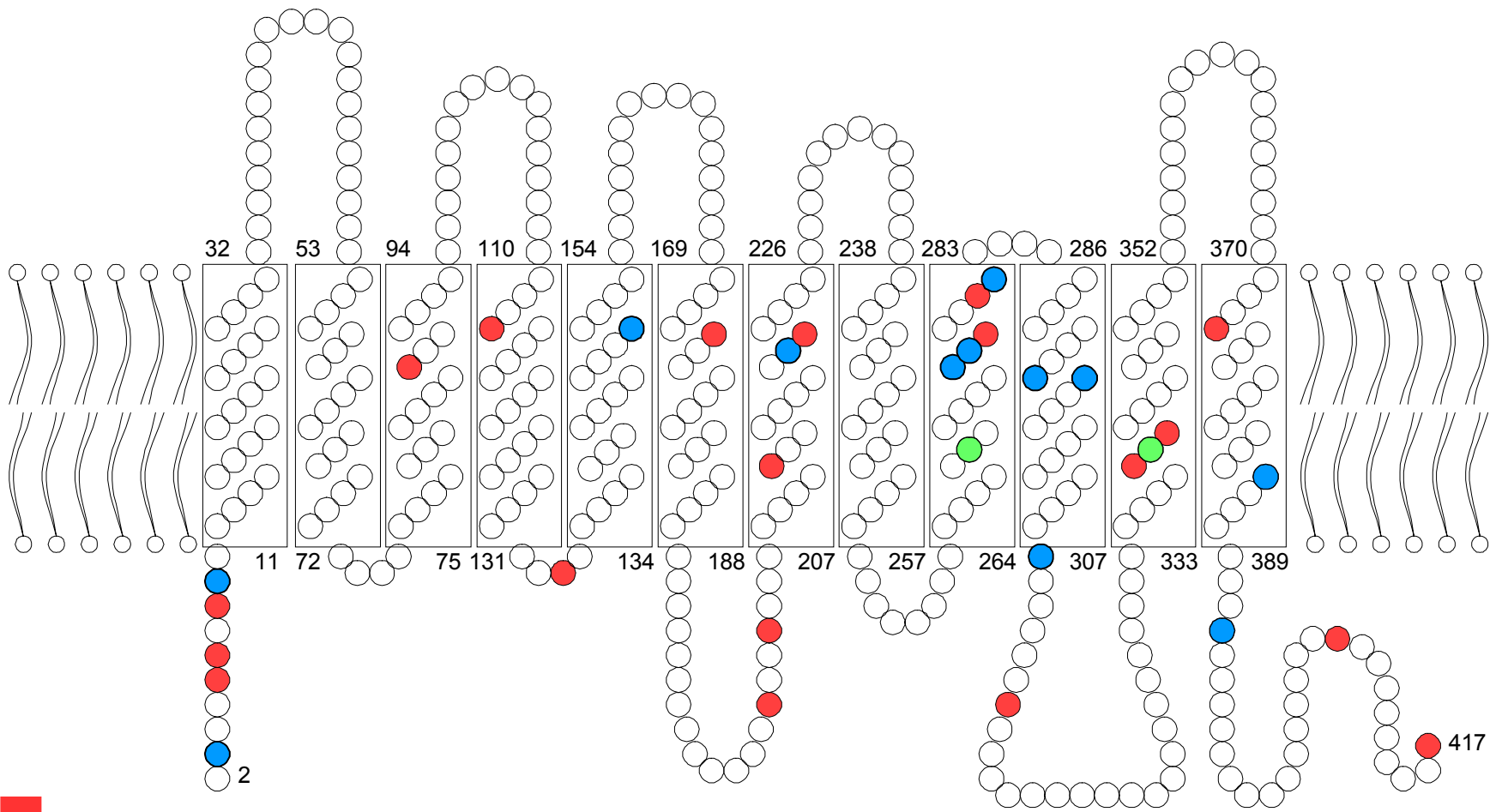
Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 1999



Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 2003



Molekulare Basis

- Häufigste molekulare Basis:
Substitution einer einzelnen Aminosäure
 - 1999: 14 der 16 bekannten weak D-Allele
 - 2004: 35 der 42 bekannten weak D-Allele



Molekulare Basis

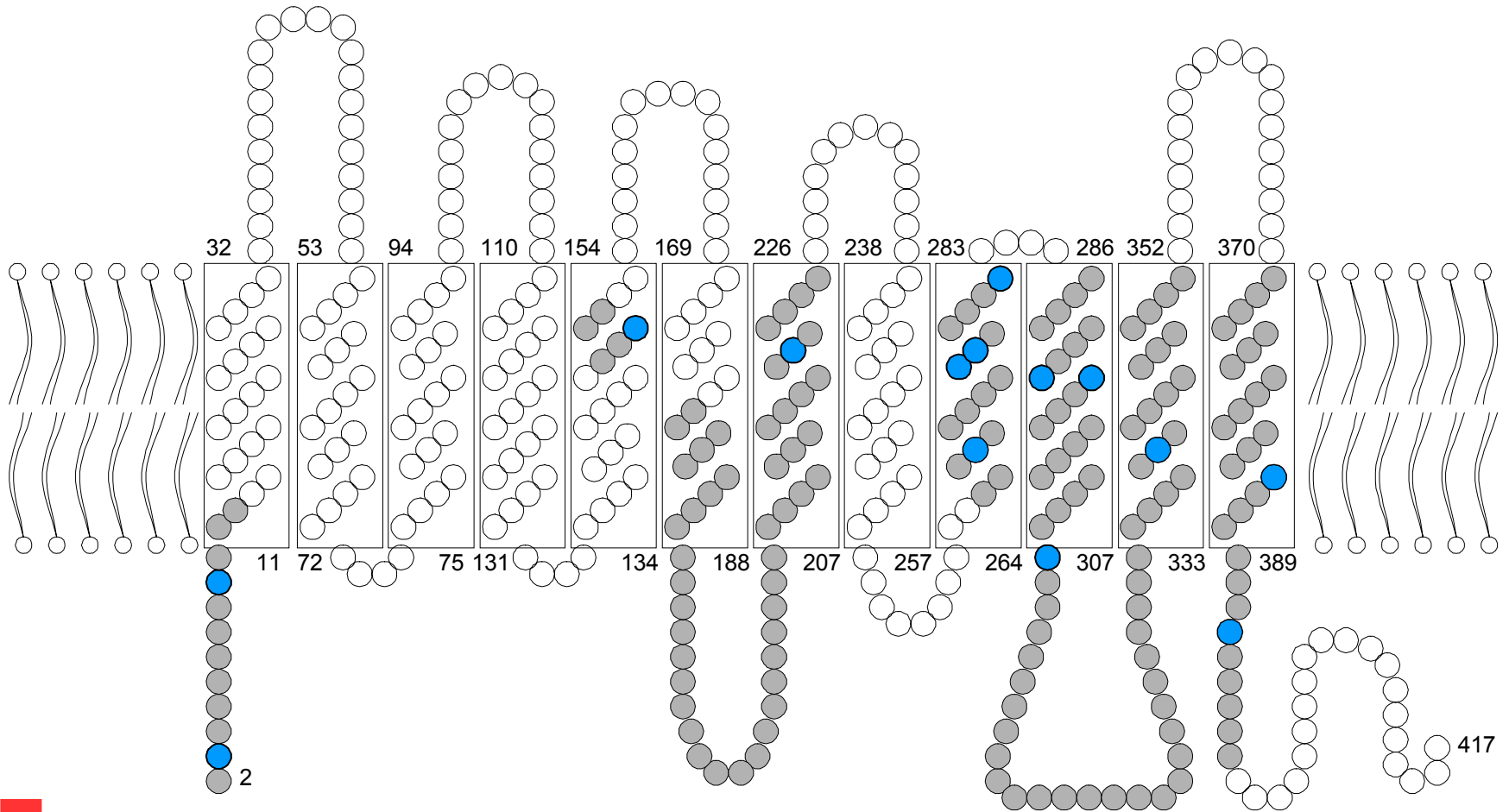
- Häufigste molekulare Basis:
Substitution einer einzelnen Aminosäure
 - 1999: 14 der 16 bekannten weak D-Allele
 - 2004: 35 der 42 bekannten weak D-Allele
- Hauptsächlich betroffene Positionen:
 - 1999: 2-13; um 149; 179-225; 267-397



Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 1999

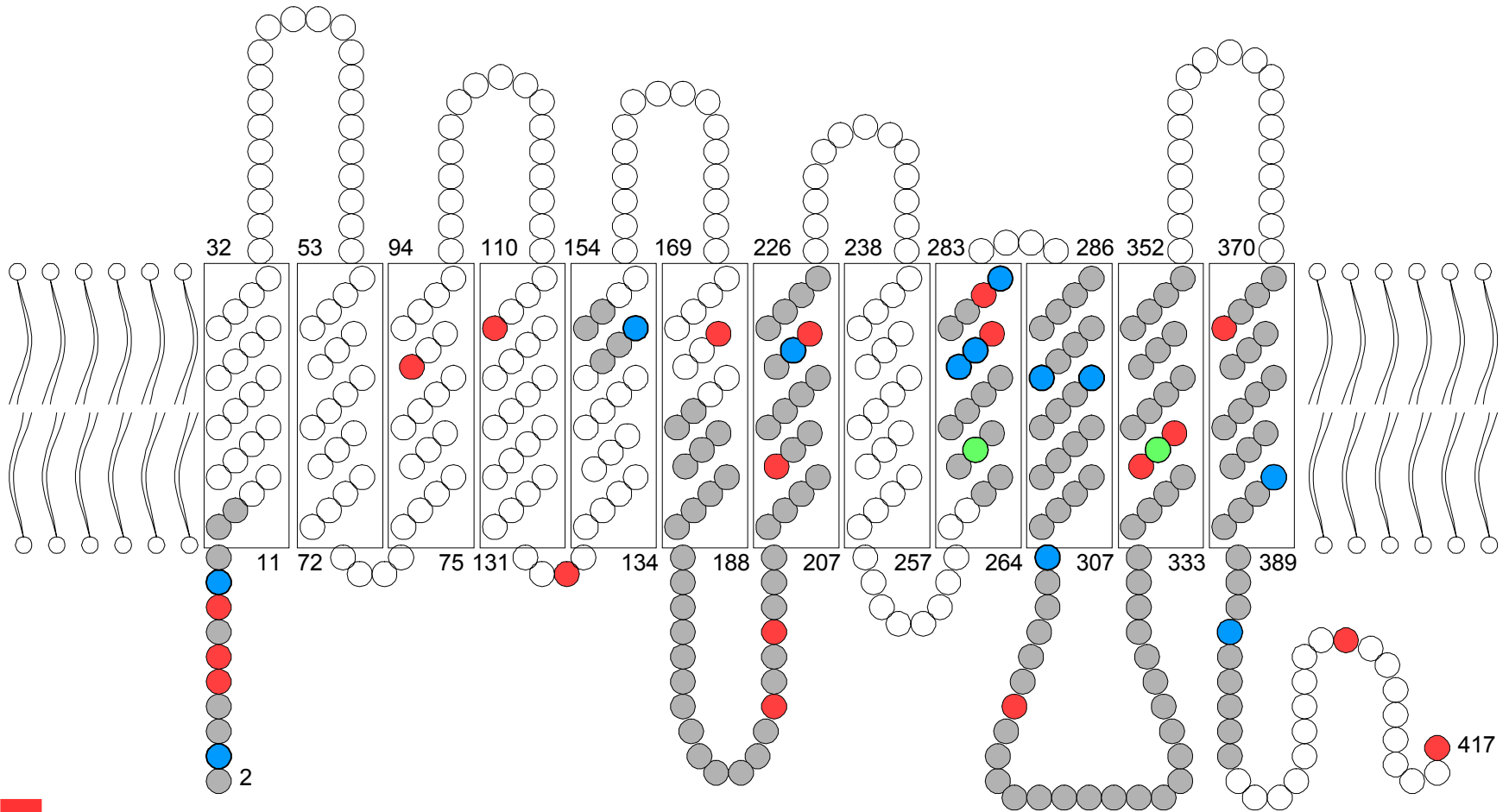
Cluster



Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 2003

Cluster



Molekulare Basis

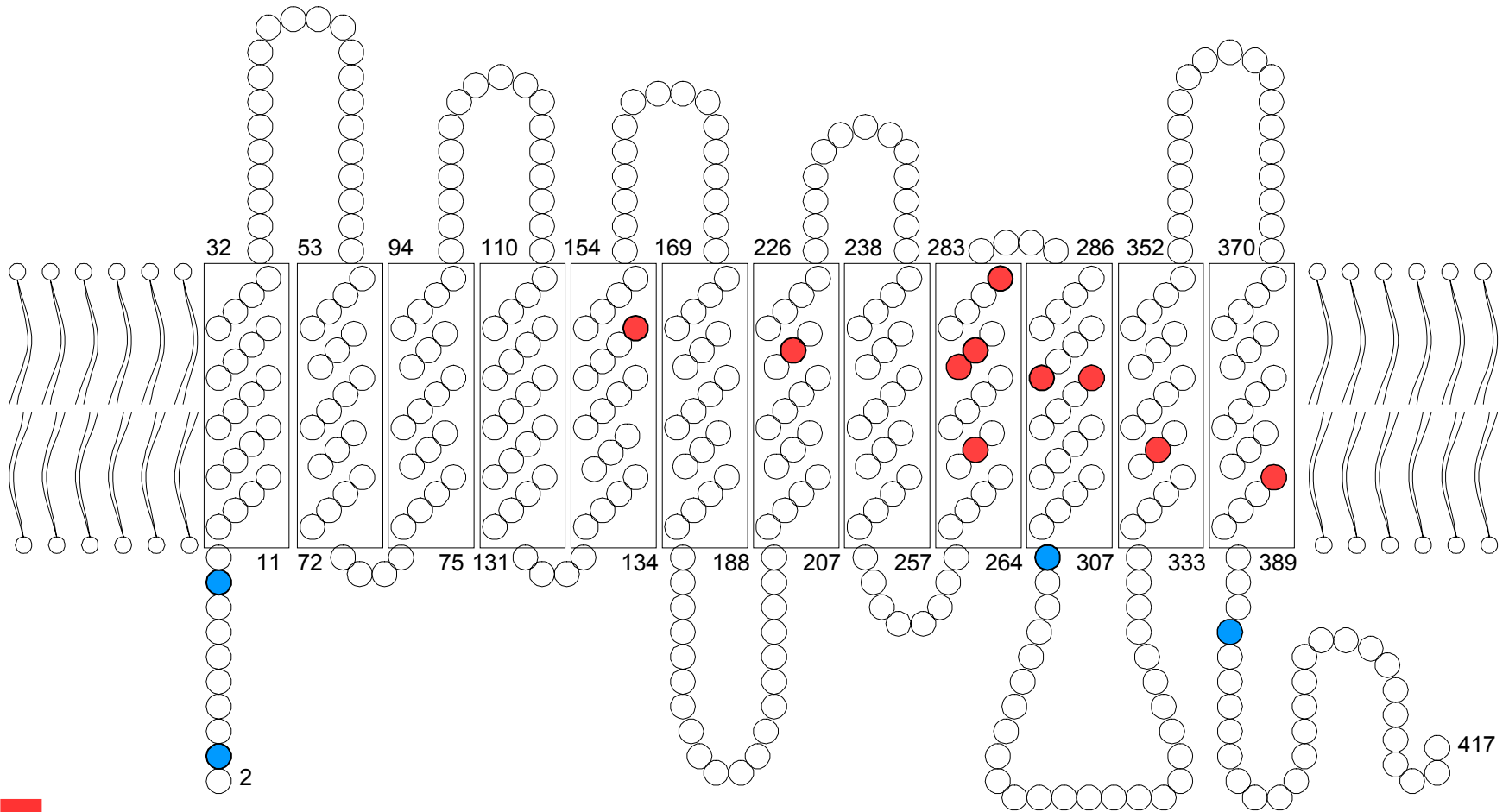
- Häufigste molekulare Basis:
Substitution einer einzelnen Aminosäure
 - 1999: 14 der 16 bekannten weak D-Allele
 - 2004: 35 der 42 bekannten weak D-Allele
- Hauptsächlich betroffene Positionen:
 - 1999: 2-13; um 149; 179-225; 267-397
 - 2004: auch transmembranäre Anteile 3+4 und intrazelluläres Proteinende



Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 1999

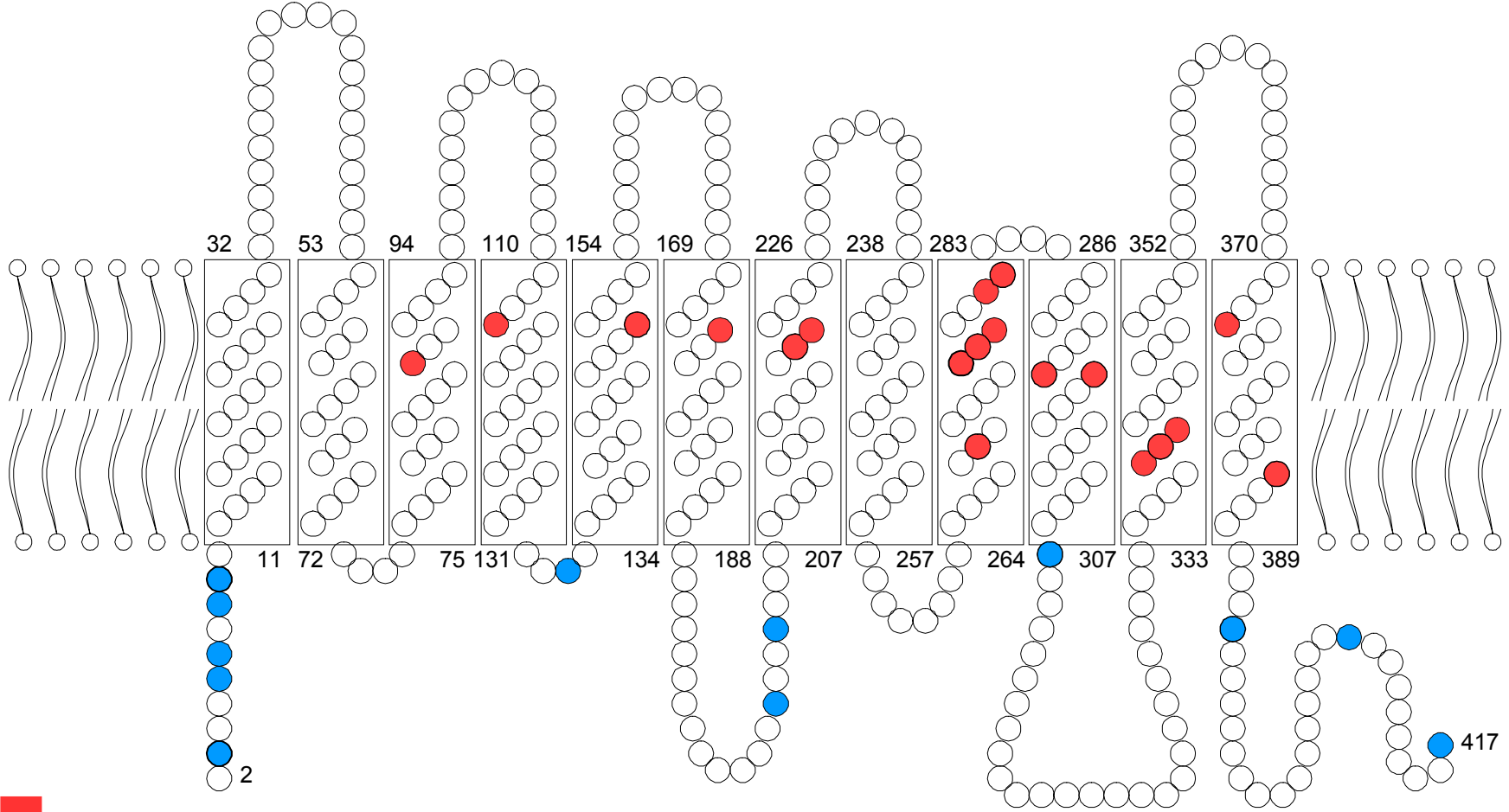
Transmembranär vs intracellulär



Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 2003

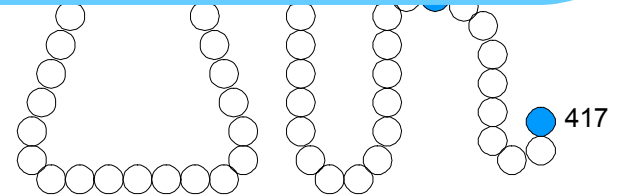
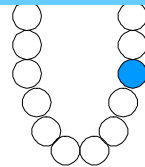
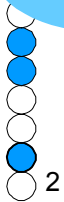
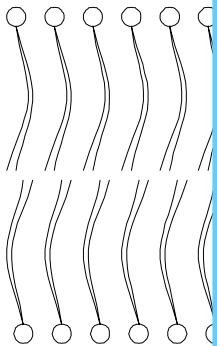
Transmembranär vs intracellulär



Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 2003

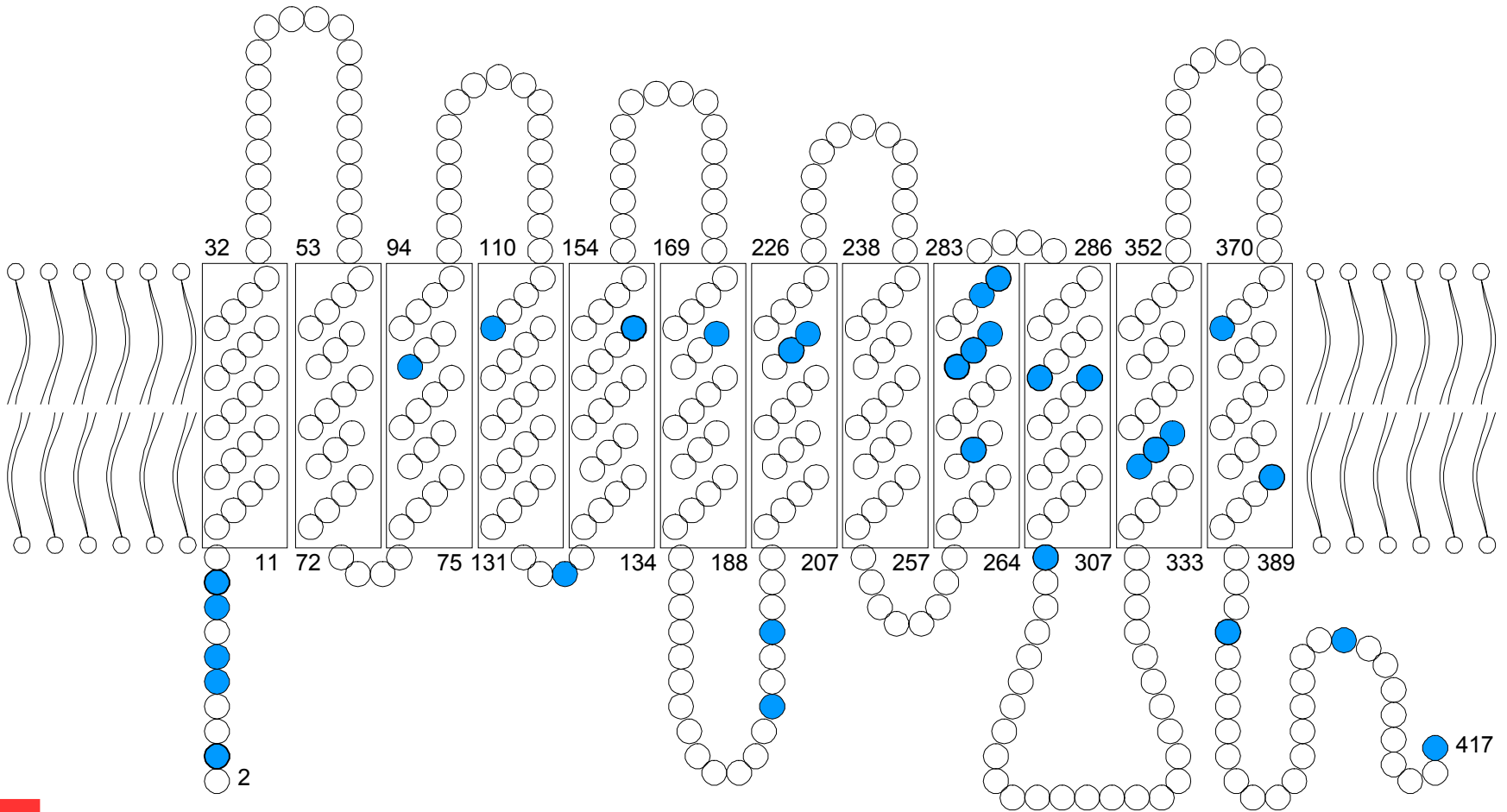
- Häufiger transmembranäre Substitutionen:
 - 20 transmembranär
 - Nur 13 intracellulär
- Aber: Substitutionshäufigkeit gleich
 - Transmembranär:
20 von 213 Positionen (9%)
 - Intrazellulär:
13 von 112 Positionen (12%)



Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 2003

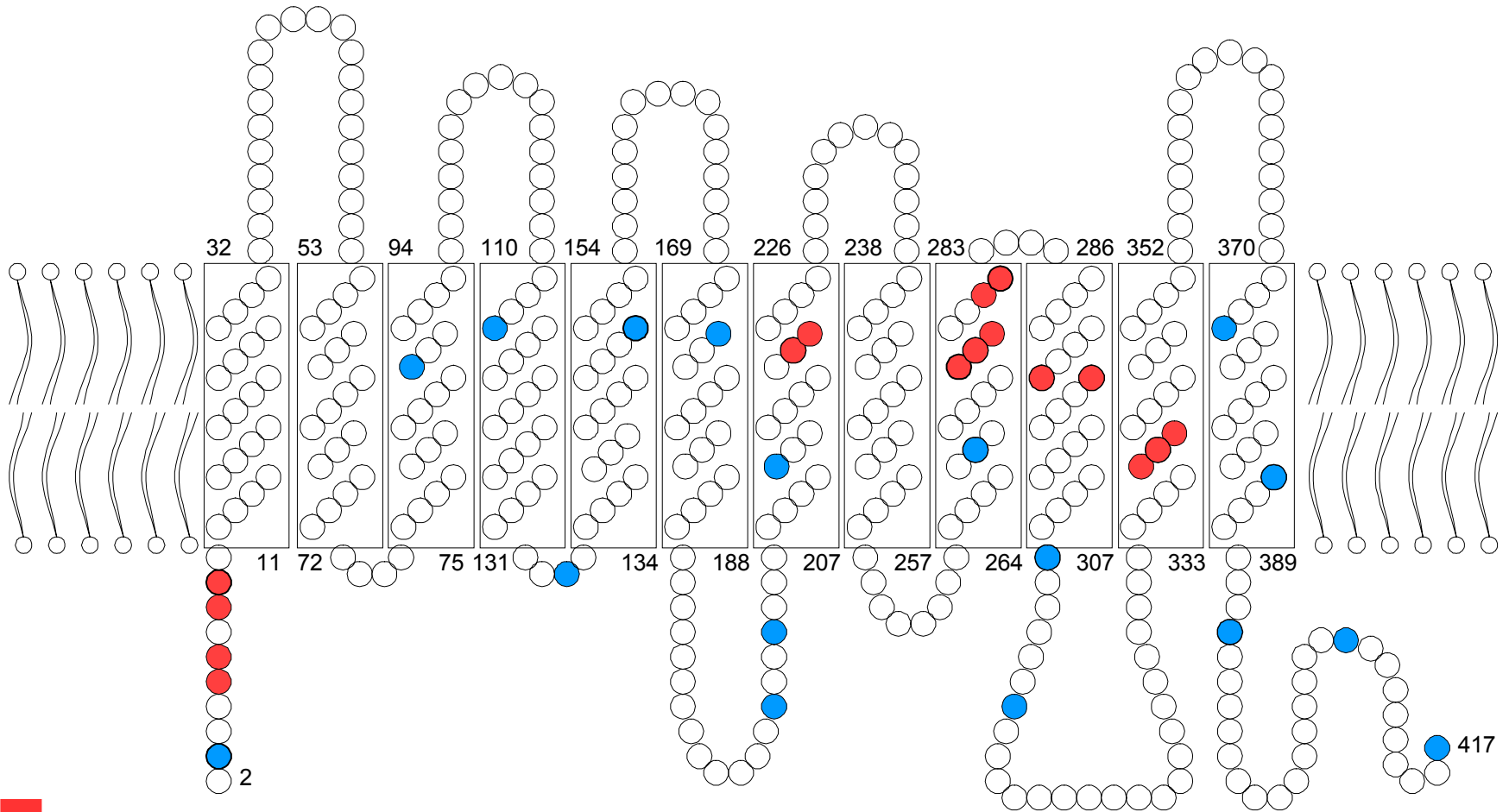
Aminosäurenpaare



Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 2003

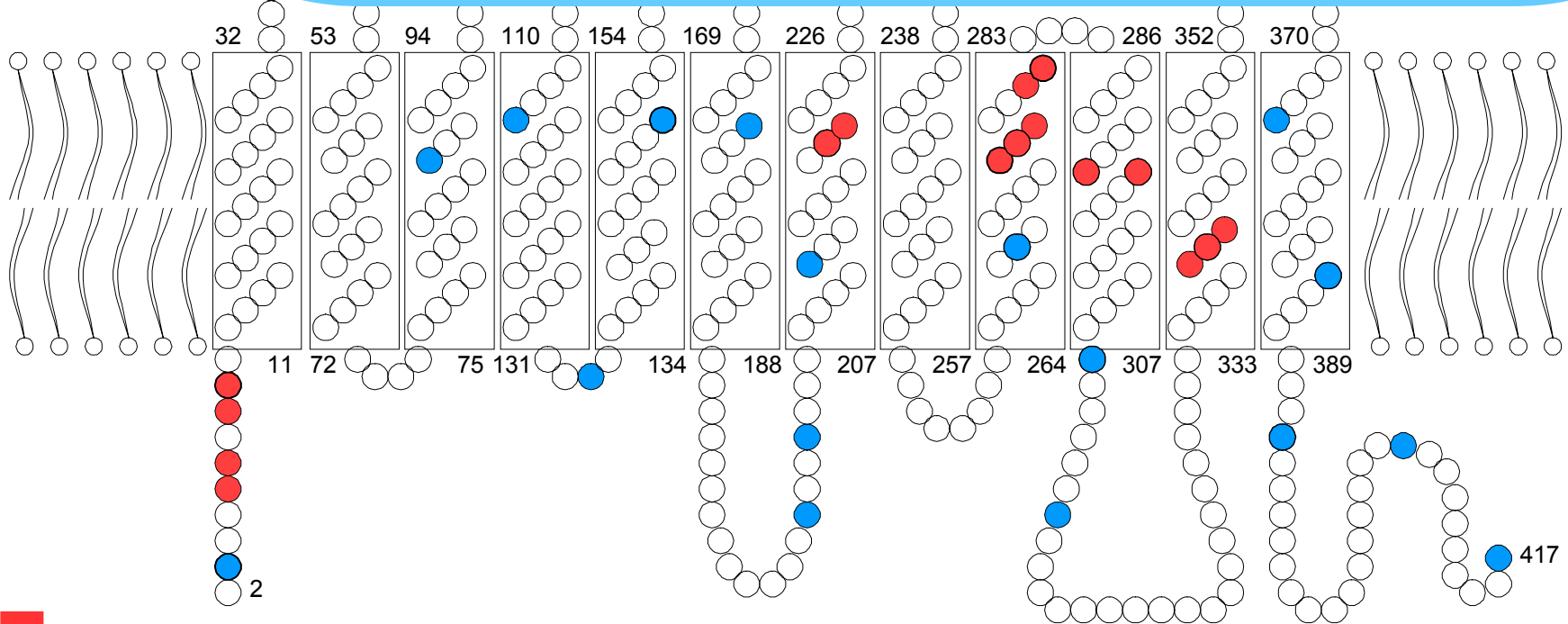
Aminosäurenpaare



Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 2003

-9x benachbarte Aminosäuren betroffen!
-In 100 Zufallssimulationen
max. Anzahl Pärchen: 7 ($3,2 \pm 1,4$)



Molekulare Basis

- Häufigste molekulare Basis:
Substitution einer einzelnen Aminosäure
 - 1999: 14 der 16 bekannten weak D-Allele
 - 2004: 35 der 42 bekannten weak D-Allele
- Hauptsächlich betroffene Positionen:
 - 1999: 2-13; um 149; 179-225; 267-397
 - 2004: auch transmembranäre Anteile 3+4 und intrazelluläres Proteinende
- Häufig benachbarte Positionen betroffen!

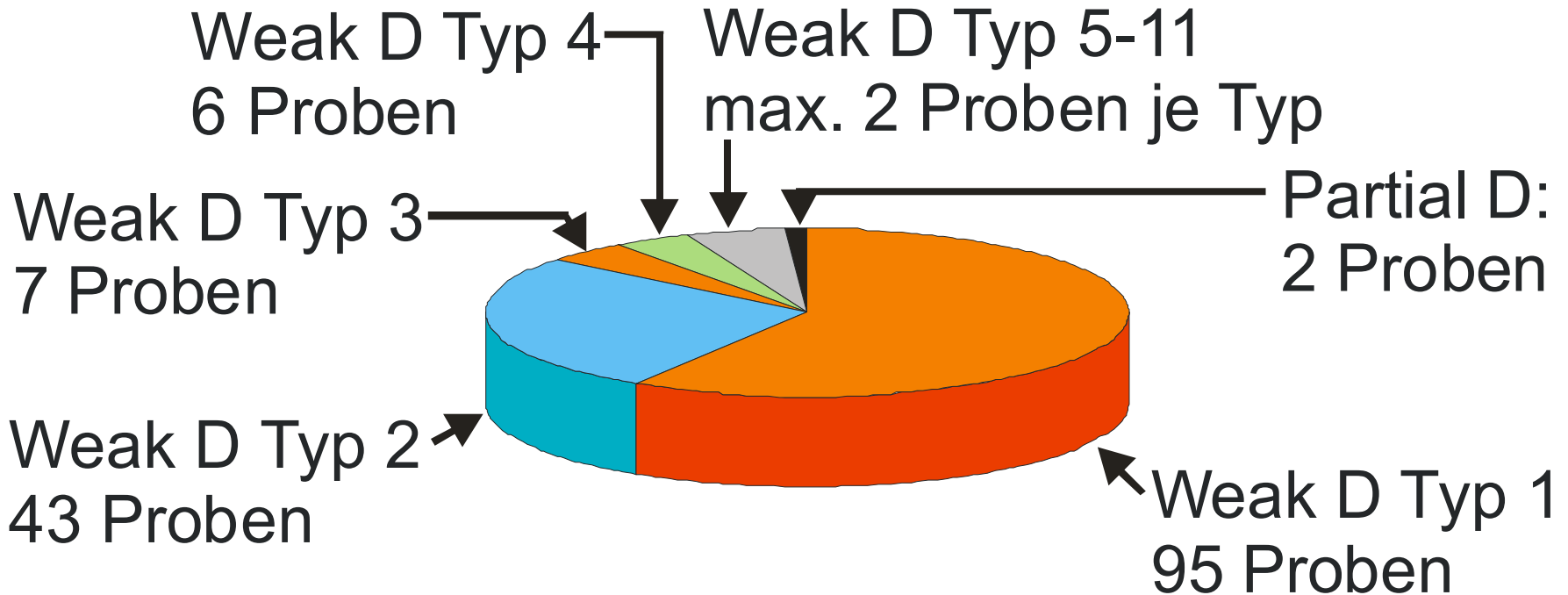
Weak D. Ein Update

- Weak D Typen
- Molekulare Basis
- Häufigste Typen, Haplotyp-Assoziation
- Mechanismen der Antigenabschwächung
- Typ-spezifischer Phänotyp
- Immunisierungsrisiko
- Diagnostische Implikationen



Häufigste Typen

Analyse von 161 Proben mit schwacher D Expression
(DVI serologisch ausgeschlossen)



Blood 1999

Häufigste Typen

- Blood 1999:
 - Typreihenfolge nach Frequenz in Südwestdeutschland
 - Häufige Typen: 1 bis 4
- Stand 2003:
 - Verteilung repräsentativ für Kaukasier

Norddeutschland	Typ 1-3	Müller 2001
Österreich	Typ 1-3	Müller 2001
Australien	Typ 1-3	Cowley 2000

Häufigste Typen

➤ Blood 1999:

- Typreihenfolge nach Frequenz in Südwestdeutschland
- Häufige Typen: 1 bis 4

➤ Stand 2003:

- Verteilung repräsentativ für Kaukasier
- Bei Asiaten sind andere Typen vorherrschend

China	Typ 15, „Del“	Shao 2002
Taiwan	Typ 15	Lin 2003

Häufigste Typen

- Blood 1999:
 - Typreihenfolge nach Frequenz in Südwestdeutschland
 - Häufige Typen: 1 bis 4
- Stand 2003:
 - Verteilung repräsentativ für Kaukasier
 - Bei Asiaten sind andere Typen vorherrschend
 - Bei Afrikanern ist z.T. weak D Typ 4 sehr häufig

Hemker 1999

Haplotyp-Assoziation

- Blood 1999:
 - Strenge Assoziation von Haplotyp und weak D Typ
 - CDe: Typ 1, Typ 3
 - cDE: Typ 2, Typ 5
 - cDe: Typ 4, Typ 11
- Stand 2003: Ausnahme *RHD*(M295I)
 - cDe = weak D Typ 11 (Erstbeschreibung)
 - CDe = „D_{el}“ (viel häufiger)

Weak D. Ein Update

- Weak D Typen
- Molekulare Basis
- Häufigste Typen, Haplotyp-Assoziation
- **Mechanismen der Antigenabschwächung**
- Typ-spezifischer Phänotyp
- Immunisierungsrisiko
- Diagnostische Implikationen



Mechanismen der Antigenabschwächung

- Blood 1999:
 - Wenig stille Mutationen
=> Weak D durch Aminosäuresubstitution?
 - Gestörte Membranintegration?



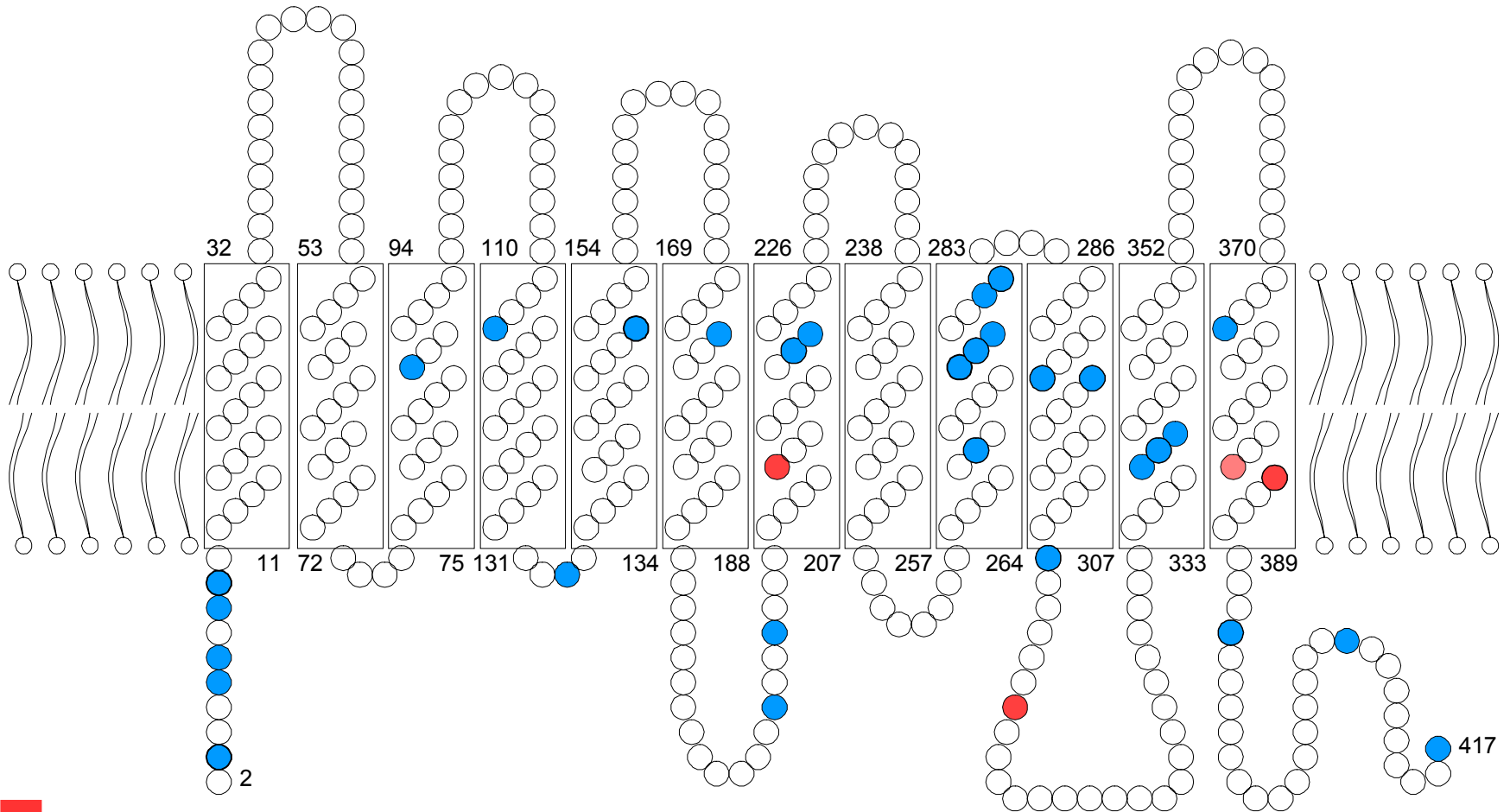
Andere Mechanismen

- Splice-Site-Mutationen
 - Phänotyp: D negativ oder D_{el}
 - Übergang D_{el} –weak D ist fließend:
 - *RHD*(M295I) häufig als „ D_{el} “ (in Gel z.T. minimal positiv)
 - Shao 2002: *RHD*(G1227A) in „weak D“-Proben
 - Bei einigen weak D Typen liegt der Austausch nahe an der Exon/Intron-Grenze

Substituierte Aminosäuren in weak D

Stand 2003

Substitutionen nahe Splicestellen



Mechanismen der Antigenabschwächung

- Blood 1999:
 - Wenig stille Mutationen
=> Weak D durch Aminosäuresubstitution?
 - Gestörte Membranintegration?
- Expressionsstudien
 - Kamesaki 2001:
 - Weak D Typ 23: Normale mRNA, normales Splicing
 - Fusionsprotein (RhD-GFP): Weniger Protein in der Membran (Typ 1, 2, und 23)
 - Antikörperstudien: qualitative Unterschiede

Weak D. Ein Update

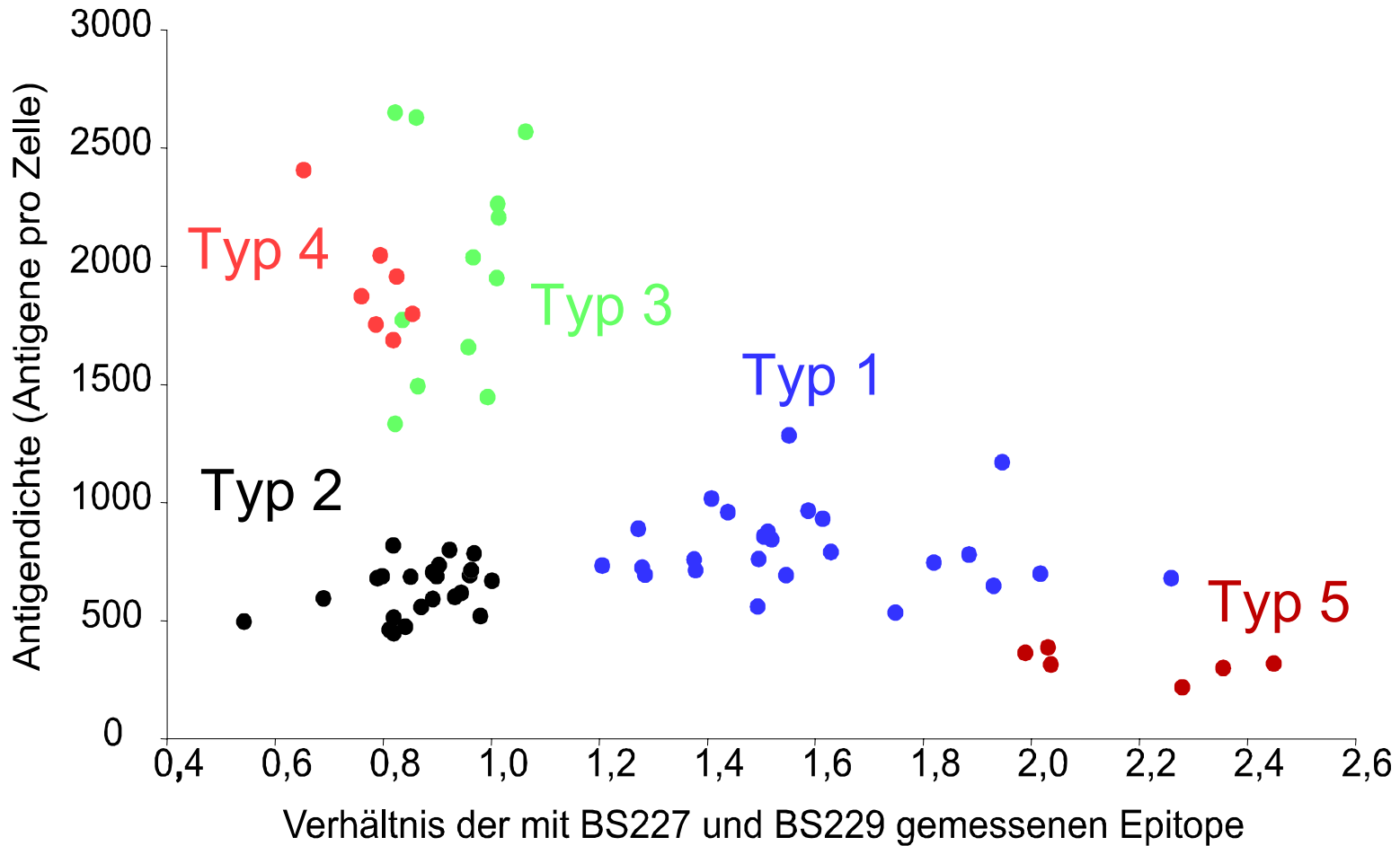
- Weak D Typen
- Molekulare Basis
- Häufigste Typen, Haplotyp-Assoziation
- Mechanismen der Antigenabschwächung
- **Typ-spezifischer Phänotyp**
- Immunisierungsrisiko
- Diagnostische Implikationen



Mechanismen der Antigenabschwächung

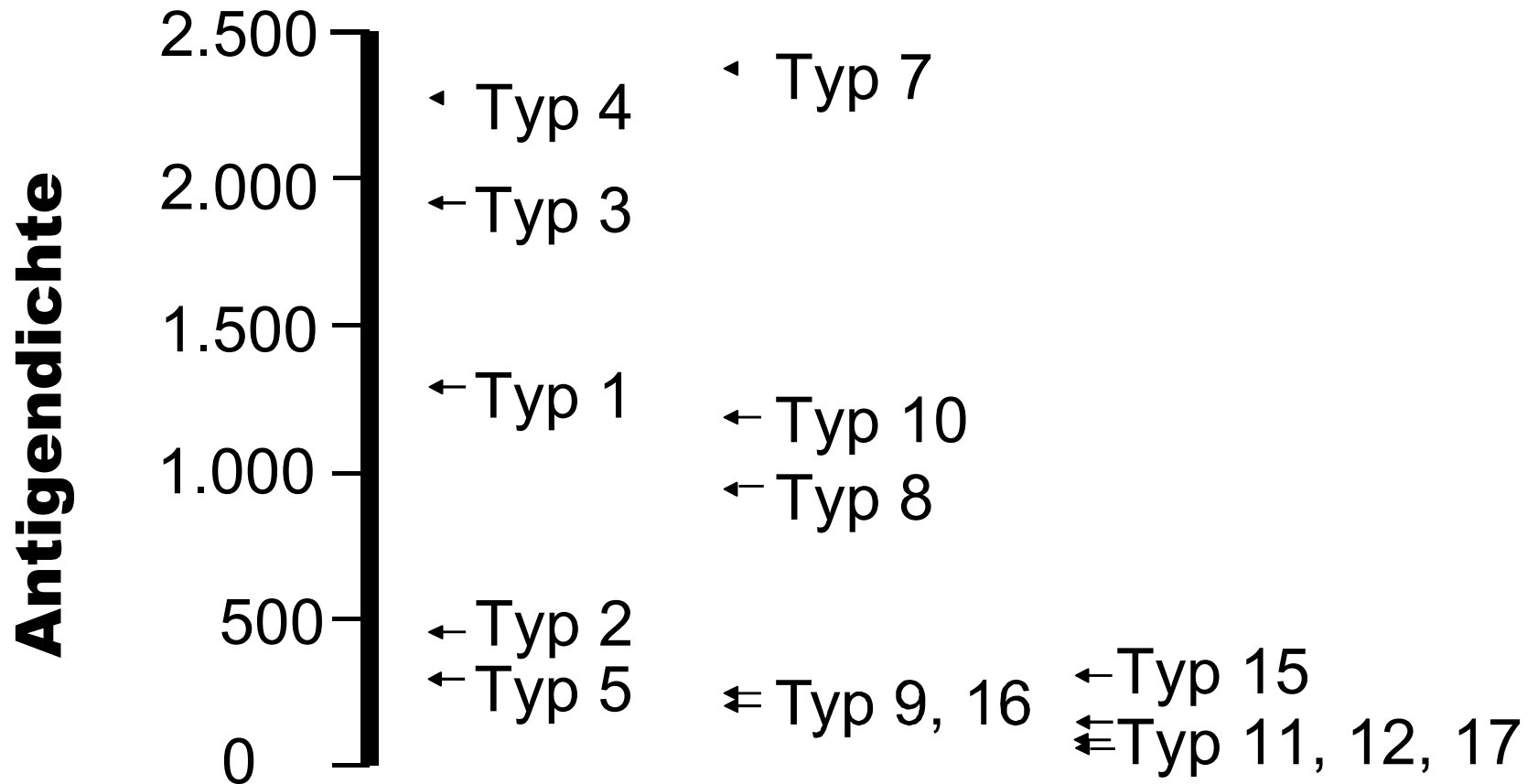
- Blood 1999:
 - Wenig stille Mutationen
=> Weak D durch Aminosäuresubstitution?
 - Gestörte Membranintegration?
- Expressionsstudien
 - Kamesaki 2001:
 - Weak D Typ 23: Normale mRNA, normales Splicing
 - Fusionsprotein (RhD-GFP): Weniger Protein in der Membran (Typ 1, 2, und 23)
 - Antikörperstudien: **qualitative Unterschiede**

Typ-spezifischer Phänotyp



Blood 2000

Typ-spezifischer Phänotyp



Weak D. Ein Update

- Weak D Typen
- Molekulare Basis
- Häufigste Typen, Haplotyp-Assoziation
- Mechanismen der Antigenabschwächung
- Typ-spezifischer Phänotyp
- **Immunisierungsrisiko**
- Diagnostische Implikationen



Keine Alloimmunisierung?

- Blood 2000:
 - 6 Proben mit V. a. Alloimmunisierung
 - Weak D Typ 1, weak D Typ 2 (n=2):
 - Nachweis von Autoantikörpern (Elution)
 - weak D Typ 4.2 (=Partial D DAR)
 - Alloimmunisierung
 - weak D Typ 15
 - Niedrigtitriger Alloantikörper



Keine Alloimmunisierung?

- Blood 2000:
6 Proben mit V. a. Alloimmunisierung
- RIR 2004:
27 Proben mit Anti-D bei weak D
 - 22 Auto-Antikörper (14 Typ 1, 7 Typ 2, 1 Typ 4.2)
(oft DCT negativ; Elution!)
 - 3 Allo-AK (Typ 4.2, Typ 15; neu: Typ 11 CDe)
 - 2 fragliche Allo-AK (beide Typ 4.0)
(negatives Eluat, Antikörpertiter 1)

Keine Alloimmunisierung?

- Blood 2000:
6 Proben mit V. a. Alloimmunisierung
- RIR 2004:
Ist die Immunisierbarkeit vorhersagbar?
 - RI immunisierbarer Typen:
0,21 (4.2) – 0,53 (11)
 - RI häufiger Typen ohne Immunisierung:
0,57 (1) – 0,77 (3)
 - Vorsichtiges Vorgehen bei seltenen Typen!

Keine Alloimmunisierung?

- Schwache D-Expression \neq „weak D“
 - DVI hat auch eine „schwache D-Expression“ (noch immer aktuell! Cannon 2003)
 - Schwache partial D und weak D sind serologisch schwer zu unterscheiden
- Epidemiologische Erfahrung besteht nur für die häufigen weak D Typen



Weak D. Ein Update

- Weak D Typen
- Molekulare Basis
- Häufigste Typen, Haplotyp-Assoziation
- Mechanismen der Antigenabschwächung
- Typ-spezifischer Phänotyp
- Immunisierungsrisiko
- Diagnostische Implikationen



Weak D - Diagnostik

- Die häufigen weak D Typen sind nicht sehr schwach
 - Vorsicht bei sehr schwacher D-Expression! Immunisierungsrisiko nicht ausgeschlossen.
 - Anti-D-Prophylaxe bei seltenen weak D sinnvoll
- Kein Rational für Anti-D-Prophylaxe bei Typ 1-3
 - Zur Vermeidung unnötiger Prophylaxen muss das diagnostische Vorgehen so gewählt werden, dass weak D Typ 1 – 3 als D positiv typisiert werden
 - Indirekter Coombstest ungeeignet wegen DVI

Weak D - Diagnostik

- PCR-Diagnostik bei „weak D“-Proben
 - Exon-scanning kann DVI ausschließen
 - Meist nicht aussagekräftig „weak D-ähnlichen“ Proben
 - Direkter Nachweis „weak D-ähnlicher“ Partial D
 - DHMi, DVII, DHO
 - Direkter Nachweis häufiger weak D Typen
 - „positive“ Erkennung, in 90% schneller Erfolg
 - Theoretisches Risiko: Zusätzliche Mutationen

