



## THE FREQUENCY OF *RHD* VARIANTS IN SEROLOGICALLY WEAK D TURKISH BLOOD DONORS

### TÜRK KAN BAĞIŞÇILARINDA SEROLOJİK *RHD* VARYANTLARININ SIKLIĞI

**ALINTI:** <https://doi.org/10.1016/j.transci.2020.103024>

**YAZARLAR:** Melek Yanaşık, Fatma Savran Oğuz, Sevgi Kalayoğlu Beşışık, Mukadder Huslu, Gülyüz Öztürk, Sonay Temurhan, Filiz Aydın

**ÖZETLEYEN:** Dr. Tıbbi Biyolog Melek YANAŞIK NİZAM

#### GİRİŞ

RhD, Rh kan grubu sisteminin en immünojenik antijenidir. Bir ünite RhD pozitif eritrositin transfüzyonu, %27 ila %56 oranında anti-D gelişimi ile sonuçlanmaktadır. D pozitif fenotipin sıklığı beyaz ırkta yaklaşık %85, sahra altı Afrika' da %95 ve Doğu Asya'da %99,5'ten fazladır.

RhD tipinin tanımlanması, D antijen ekspresyonunun varyasyonu nedeniyle zor olabilir. Rh proteinlerinin 12 transmembran segmenti ve altı ekstrasellüler kıvrımı vardır. Bu segmentlerdeki amino asit değişimi, yeni antijenik yapıların gelişmesine yol açabilir. Zayıf D fenotipi, esas olarak, hücre içi veya transmembran RhD bölgelerinden oluşan amino asidi kodlayan *RHD* genindeki tek noktali mutasyonlardan kaynaklanır ve eritrosit membranı üzerinde RhD proteininin azalmış ekspresyonu sonucunda oluşur. *RHD* geninde hücre dışı bölgelerde tek bir amino asit değişikliğine neden olan nokta mutasyonları, yeni epitopların gelişimi ve parsiyel D olarak adlandırılan RhD antijeninin kalitatif bir varyantı ile sonuçlanmaktadır.

Bu çalışmada serolojik olarak zayıf D kan grubuna sahip kan bağışçılarında zayıf D/parsiyel D varyant sıklığını belirlemesi amaçlanmıştır.

#### GEREÇ-YÖNTEM

2011-2017 arasında gerçekleştirilmiştir. Numuneler üç farklı teknolojiyle çalışılmıştır. Kolon aglütinasyon yöntemi ile monoklonal IgM (klon D7B8) içeren anti-D reaktifi test edilirken diğer iki anti-D antikoru iki farklı jel santrifügasyon teknolojisi kullanılmıştır. Bu teknolojilerden

biri IgM olarak klon RUM 1, RUM-1 klonlarını ve IgM ve IgG olarak MS-26 klonlarını taşıırken, diğerk teknolojik üretici IgM gibi P3x61 klonunu, IgM ve IgG olarak P3x290, P3x61, P3x35 ve P3x21223B10 klonlarını içermektedir.

Aglütinasyon gücü 4'ten daha az olan numuneler, varyant D moleküler testine alınmıştır. 67 bağışçı çalışmaya katılmıştır. Bu bağışçılarda D varyantlarının belirlenmesi için PCR-SSP yöntemi kullanılmıştır. Kullanılan kit parsiyel D için, PCR-SSP kiti DII, DIII, DIV, DV, DVI, DVII, DAU, DBT, DFR, DAR, DHMi, DNB ve DHAR (Rh33) tiplerini belirlerken; Zayıf D PCR-SSP kiti, zayıf D Tip 1, 2, 3, 4.0 / 4.1 / 4.2, 5, 11, 15 ve 17 tiplerini tanımlamak için tasarlanmış primerler içermektedir. Bağışçıların RhCE fenotiplemesi kolon agglütinasyon yöntemiyle yapılmıştır.

## SONUÇ-TARTIŞMA

Altı yıl boyunca başvuran 177.554 bağışçıdan 228'inde (%0.12) zayıf D fenotipi tespit edilmiştir. Altmış yedi bağışçının ABO dağılımı ve demografik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. En çok karşılaşılan ABO kan grubu A grubu (%41.8) olurken, onu %37.3 ile O grubu takip etmiştir. B grubu ve AB kan grubu sırasıyla %17.9 ve %3.0 idi.

Zayıf D varyantları ve *RhD* allellerinin dağılımı tablo2'deki gibidir. RhCE tiplendirmesinde en sık karşılaşılan RhCE fenotipi Ccee idi (%53,7; n=36). RhCE fenotipinin D varyantları ile ilişkisi, literatüre dayalı haplotip karşılaştırması ile Tablo 3'te verilmektedir (Tablo 3).

**Tablo 1:** Çalışmaya katılan 67 bağışçının ABO kan grubu dağılımı ve demografik özellikleri

<b>Yaş (yıl)</b>	<i>Ortanca (aralık)</i>	35 (20-52)
	<i>Ortalama±Ss</i>	34.96±8.47
<b>Cinsiyet</b>	Erkek (n;%)	61 (91.0)
	Kadın (n;%)	6 (9.0)
<b>Kan grubu</b>	O	28 (41.8)
	A	25 (37.3)
	B	12 (17.9)
	AB	2 (3.0)

**Tablo 2: Zayıf D varyantları ve RhD allellerinin dağılımı**

	Varyant tipi	Allel name (ISBT isimlendirmesi)	n (%)
Parsiyel D	<b>DFR</b>	RHD*17.01 (RHD*DFR1) RHD*17.02 (RHD*DFR2) RHD*17.03 (RHD*DFR3) RHD*17.04 (RHD*DFR4) RHD*17.05 (RHD*DFR5) (altalleller belirlenmedi)	10 (14.9)
	<b>DVa, DVa-benzeri, DVa-ilişkili, DBS</b>	RHD*05.03; RHD*DV.3 (altalleller belirlenmedi)	3 (4.5)
	<b>DAU<sup>(0,1,2,3)</sup></b>	RHD*10.00 (RHD*DAU0) RHD*10.01 (RHD*DAU1) RHD*10.02 (RHD*DAU2) RHD*10.03 (RHD*DAU3) (altalleller belirlenmedi)	1 (1.5)
	<b>DVI Tip 3</b>	RHD*06.03 (RHD*DVI.3)	1 (1.5)
Zayıf D	<b>Tip 1</b>	RHD*01.W.1 (RHD*weak type 1)	9 (13.4)
	<b>Tip 2</b>	RHD*01.W.2 (RHD*weak type 2)	6 (9)
	<b>Tip 3</b>	RHD*01.W.3 (RHD*weak type 3)	2 (3)
	<b>Tip 5</b>	RHD*01.W.5 (RHD*weak type 5)	1 (1.5)
	<b>Tip 11</b>	RHD*11 (RHD*weak partial 11)	10 (14.9)
	<b>Tip 15</b>	RHD*15 (RHD*weak partial 15)	18 (26.9)
<b>Belirlenemeyen</b>			6 (8.9)

**Tablo 3- Literatür temelli haplotip ilişkisi ile RHD varyantları ve RhCE fenotip dağılımı**

	Variant type	Rh C/c and E/e phenotype (n)	Literature-based haplotype association	References
Weak D	<b>Type 1</b>	Ccee (8); CCee (1)	Ce	[23,29-36]
	<b>Type 2</b>	Ccee (4); CCee (1); ccEe (1)	cE	[23,29-36]
	<b>Type 3</b>	Ccee (1); ccEe (1)	Ce	[23,29-35]
	<b>Type 5</b>	ccEe (1)	cE	[23,29,31, 33,34,36]
	<b>Type 11</b>	Ccee (9); CCee (1)	Ce	[23,29-31, 33,36]
	<b>Type 15</b>	ccEe (17); ccEE (1)	cE	[23,29,31]
	<b>DVI type 3 DVa, DVa- like, DVa- associated, DBS</b>	Ccee (1)	Ce	[31,34,37]
Partial D	<b>DAU (0,1,2,3)</b>	Ccee (3)	Ce, ce, cE	[31,34]
	<b>DFR</b>	Ccee (1)	ce	[31]
		Ccee (7); CCee (2); ccEe (1)	Ce > cE multi	[31,33,34, 37]

Zayıf D eritrositler, düşük miktarlarda D antijeni gösterir. Sonuç, hızlı spin fazında anti-D reaktifleri ile zayıf veya aglütinasyonun olmamasıdır. Tüm zayıf D tiplerinin alellerinde gözlenen missense mutasyonların olası azalmış D antijeninin nedeni olduğu gösterilmiştir.

Parsiyel D eritrositlerde RhD proteini, en az bir D'ye özgü epitopu ortadan kaldırarak dış yüzde bulunan bir ilmekte mutasyona uğrar. Eritrositin yüzeyindeki RhD antijenlerinin sayısı çoğunlukla normal ancak bazı varyasyonlarda azalmıştır.

“DEL” fenotipi D varyantlarının üçüncü bir grubudur. DEL sadece genetik analiz ile tespit edilebilir. DEL RBC'ler olağanüstü düşük sayıda D antijeni içerir, ancak buna rağmen, D negatif alıcılarda D antijenine karşı birincil ve ikincil bağışıklık tepkilerine neden olabilir. Neyse ki, görülme sıklığı çok düşüktür.

Moleküler olarak tanımlanmış zayıf D tipleri, Rhesus veritabanına kaydedilir. Çalışmada zayıf D tip 1 ve 3, literatüre dayalı haplotip (Ce) birlikteliği ile uyumlu olarak Ccee fenotipi ile ilişkilendirilmiştir. Zayıf D tipleri 2, 5 ve 15, bir cE alel ilişkisi ile rapor edilmiştir. Çalışmanın sonucu bununla uyumluydu. Ayrıca çalışmada tip 2'de dört olguda Ccee ve bir olguda CCee fenotipi gözlemlenmiştir. Ce allel haplotipi ile zayıf D tipi 11 rapor edilmiştir. Çalışmanın sonucu da bu veriyle de uyumluydu. Zayıf D tipi 15, ccEe bireyleri arasında zayıf D'nin en sık nedenidir (Tablo 3).

Parsiyel D varyantları için; literatürde ce haplotipi ile DAU tipi bildirilmiştir. Bununla tutarlı olarak, bu çalışmada Ccee fenotip ilişkisi ile DAU tipi arasında bulunmuştur. DVI tip 3, cE haplotip ilişkisi ile çoklu RHCE haplotipleri olan DFR ve DV varyantları ilişkisi rapor edilirken, aynı ilişki bu çalışmada da bulunmuştur.

Zayıf D fenotipinin birincil önemi RhD alloimmünizasyonudur. Kan bankaları, politikalarını zayıf D antijenine maruz kalmaktan ve anti-D gelişimine göre geliştirmelidir.

Serolojik zayıf D fenotiplerinin prevalansı ırk ve etnik kökene göre değişir. Zayıf D fenotipinin sıklığı beyaz ırkta %0.2-3 arasında bildirilmektedir. Bu çalışmada zayıf D fenotip frekansı %0.12 olarak bulunmuştur.

Çoğu serolojik zayıf D fenotipi (Kuzey Avrupalılarda >%95), zayıf D tip 1, 2 ve 3 olarak gözlenmektedir. Zayıf D tip 4.0, 4.1, 4.2 ve 4.3, tip 11, tip 15 ve tip 5 beyaz ırkta nadir görülen

zayıf D varyantlarıdır. Farklı bir etnik popülasyon arasında, örneğin güney Mısır'da, en sık görülen zayıf D alellerinin tip 4 olduğu bulunmuştur. Kuzeydoğu Çin popülasyonunda, tip 15, DVI tip 3 ve R8HD1227A, en yaygın D varyant alelleri olarak rapor edilmiştir. Türkiye, farklı etnik gruplarla Avrupa ve Asya DNA'sının bir karışımını kapsayan bir ülkedir. Ancak 1965 yılından itibaren ülkede etnik köken sorgulanmadığından, etnik köken için genel bir dağılım oranı vermek mümkün değildir.

Bu çalışmanın amacı, RHD genotiplemesi için adayların sıklığını bulmak ve kan merkezi pratiği için bazı kriterleri uygulamaktır. Çalışmada sırasıyla *zayıf D tip 15* (%26,9), *DFR* (%14,9), *tip 11* (%14,9) ve *tip 1* (%13,4) en sık karşılaşılan varyantlar iken *zayıf D tip 2* (%9,0), *DVa* (%4,5), *tip 3* (%3,0), *tip 5* (%1,5), *DVI-3* (%1,5) ve *DAU* <sup>(0,1,2,3)</sup> (%1,5) nadir görülen diğer RHD varyantları idi.

Özetle, klinik laboratuvarlar, serolojik olarak zayıf D fenotiplerinin saptanmasını artırmak ve RHD moleküler tiplmeyi çözmek için politikalar uygulamalı, bunların saptanmasını engellememeli veya saptamayı isteğe bağlı hale getirmemelidir. Bunun ötesinde, yazarlar çeşitli etnik popülasyonlardan elde edilen fenotipik ve genotipik tanımlamaların, rapor edilen RHD alellerinin repertuarına katkıda bulunacağını düşünmektedir.