



Auch Blutgruppen werden gelegentlich schwach ...

Tina Weingand, Adrian Schmidt

Hämatologisches Zentrallabor, Luzerner Kantonsspital, Luzern

Ein 76-jähriger Patient steht seit 2005 aufgrund einer essentiellen Thrombozythämie ohne relevante Nebendiagnosen in unserer Behandlung. Unter Acetylsalicylsäure und Hydroxyurea ist er beschwerdefrei. Bei einer Kontrolle im Herbst 2009 fiel in der Blutgruppenbestimmung mittels Geltechnik (DiaMed, Cressier) eine Doppelpopulation auf (Abb. 1, 2 ). Damit konnte die Blutgruppe nicht eindeutig bestimmt werden. Schon im Juli 2007 war eine Doppelpopulation vorhanden, vier Tage später zeigte sich aber wieder eindeutig die Blutgruppe A negativ. Man erkennt deutlich bei der Antigenbestimmung im Ansatz für A-Antigen und AB-Antigen je eine Doppelpopulation. Die Serumgegenprobe zeigt dagegen eindeutig nur das Vorhandensein von B-Isoagglutininen, entspricht also der Blutgruppe A. Bei diesem diskrepanten Befund für ABO-Antigene und -Isoagglutinine ist die Interpretation der ABO-Blutgruppe nicht möglich, weiterführende Analysen sind notwendig.

Dazu ist es wichtig, die chemische Natur der ABO-Antigene zu verstehen (Abb. 3 ). Bei den ABO-Blutgrup-

penantigenen unterscheidet man das Trägermolekül (Sphingolipid nur mit Fucosylrest = H-Antigen = Blutgruppe O) von den glykosylierten H-Antigenen (Blutgruppe A, B und AB). Dabei sind die primären Genprodukte nicht die A- oder B-Antigene, sondern die A- und B-Transferasen (Alpha-N-Acetylgalaktosaminyl-Transferase hängt N-Acetylgalaktosamin an das H-Antigen = Blutgruppe A; Alpha-Galaktosyl-Transferase hängt Galaktose an das H-Antigen = Blutgruppe B; sind beide Enzyme vorhanden, entsteht Blutgruppe AB, fehlen sie, ist die Blutgruppe O).

In der Routinediagnostik der Blutgruppenantigene wird heute häufig die Gelzentrifugationstechnik verwendet. In den Säulen befinden sich Mikropartikel, die mit spezifischen monoklonalen Antikörpern (Ak) beladen sind. Gibt man Erythrozyten hinzu und zentrifugiert, so sedimentieren die Erythrozyten, welche das entsprechende Antigen (Ag) nicht besitzen, zum Boden der Säule, während diejenigen, welche das korrespondierende Ag besitzen, von den Ak festgehalten werden und oberhalb der Partikelschicht eine sichtbare Agglutination bilden. Als weitere Methode zum Antigennachweis eignet sich die Agglutination der Patientenerthrozyten mit speziellen Antikörpern im Röhrchen. Dabei werden Erythrozytensuspension und Serum mit Antikörpern gemischt und inkubiert. Dann wird das Röhrchen zentrifugiert. Die Erythrozyten bilden am Boden des Röhrchens einen «Knopf». Hat eine Ag/Ak-Reaktion stattgefunden, so bleiben beim vorsichtigen «Aufschütteln» die Agglutinate sichtbar. Andernfalls fehlen diese, und das Erythrozytensediment kann leicht und vollständig resuspendiert werden. Diese Methode ist aufwendiger und die Beurteilung personenabhängiger. In unserem Fall wurde sie als zweite Methode mit einem anderen monoklonalen Antikörper (andere Firma!) angewendet. Das Blut unseres Patienten zeigte eine Agglutination mit Anti-H. Zum besseren Verständnis dieses Befundes ist es relevant zu wissen, dass sich beim Blutgruppen-Ag A verschiedene Untergruppen (A1, A2, A3, Ax u.a.) unterscheiden lassen. Erythrozyten mit sogenannten «schwachen A-Antigenen» (d.h. non-A1) haben deutlich weniger A-Substanz auf ihrer Oberfläche. Je nach Abschwächungsgrad nimmt korrespondierend die Expression an H-Substanz zu. Bei schwacher A-Antigenexpression kann deshalb mit einem «Anti-H»-Antikörper eine Agglutination im Röhrchen erzeugt werden. Ausser auf Erythrozyten schwacher A-Untergruppen (A2, A3 etc. mit im Vergleich zu A1-Erythrozyten weniger A-Substanz und dadurch stärker nachweisbarem H-Ag) reagieren auch O-Erythrozyten positiv (sie besitzen wie erwähnt nur das H-Ag).

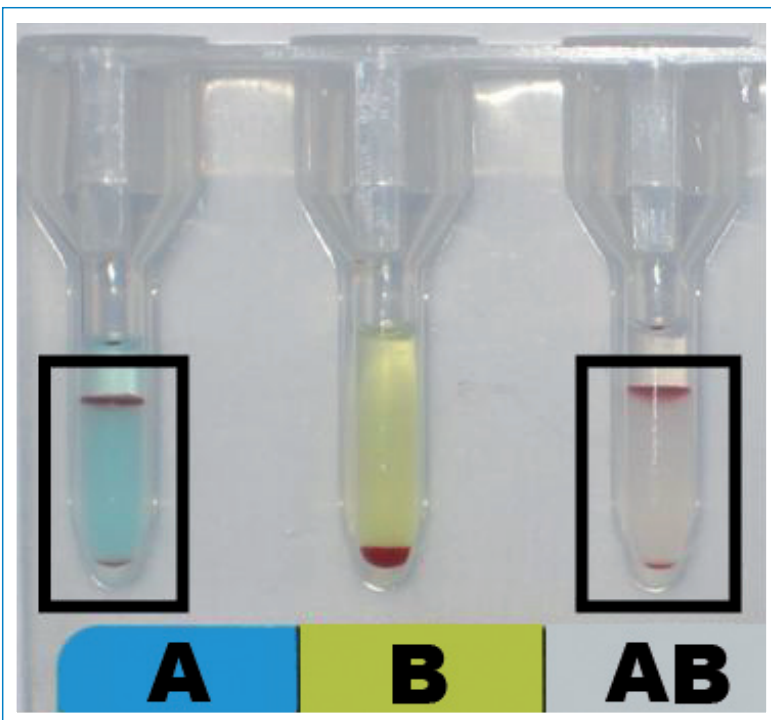


Abbildung 1: Antigenbestimmung

Patientenerthrozyten binden an monoklonale Antikörper, die im Gel fixiert sind. Die nicht gebundenen Erythrozyten, die das entsprechende Antigen nicht besitzen, sedimentieren.

Antigene A und AB: Doppelpopulation. **Antigen B:** negativ. Die Blutgruppe ist nicht klar bestimmbar (Blutgruppe A oder O).

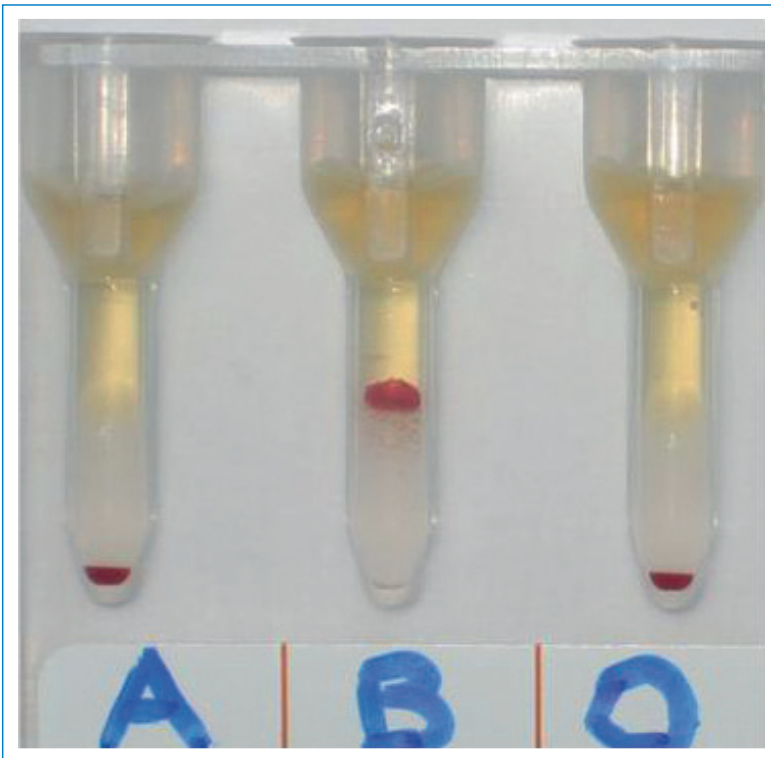


Abbildung 2: Serumgegenprobe
Die im Serum befindlichen Isoagglutinine (Anti-A, Anti-B) werden durch Agglutination von Testerythrozyten der Blutgruppe A oder B (sowie 0 als Negativkontrolle) nachgewiesen. **Anti-A:** negativ. **Anti-B:** positiv. Der Befund entspricht Blutgruppe A.

Der serologische Befund wurde schliesslich durch die Genotypisierung (Blutgruppenbestimmung mittels PCR) bestätigt. Es fand sich ein 01- und ein A2-Allel (BG 01A2), womit unserem Patienten die Blutgruppe A2 zugeordnet werden konnte, mit einem zumindest phänotypischen Verlust dieses A2-Ag auf einer kleinen Erythrozytenpopulation.

Antigenverluste bei hämato-onkologischen Erkrankungen wurden erstmals 1956 von Alexander Wiener beschrieben. Am häufigsten handelt es sich um den Verlust von AB0-Ag, aber auch das Rh-Ag kann betroffen sein [1–3]. Dies wird von den serologischen Testsystemen in der Regel erst dann erkannt, wenn mehr als 50% der Zellen einen Antigenverlust aufweisen. Mittels sensitiverer Methoden würde man dieses Phänomen wesentlich früher und daher auch häufiger entdecken [1, 2, 5]. In einer flowzytometrischen Untersuchung hatten beispielsweise 55% der Patienten mit hämato-onkologischen Neoplasien myeloischen Ursprungs eine Erythrozytenpopulation mit verminderter Expression von A- oder B-Ag [1]. Bei soliden Tumoren scheint zudem der Verlust von ABH-Ag auf dem Tumorgewebe mit einer schlechteren Prognose einherzugehen [1].

Ätiologisch werden für diese Antigenverluste verschiedene Mechanismen diskutiert, wobei in allen Fällen eine Veränderung der DNA massgebend ist:

- verminderte Aktivität der Glykosyltransferasen durch Mutationen im AB0-Genlocus des Chromosoms 9 [4].

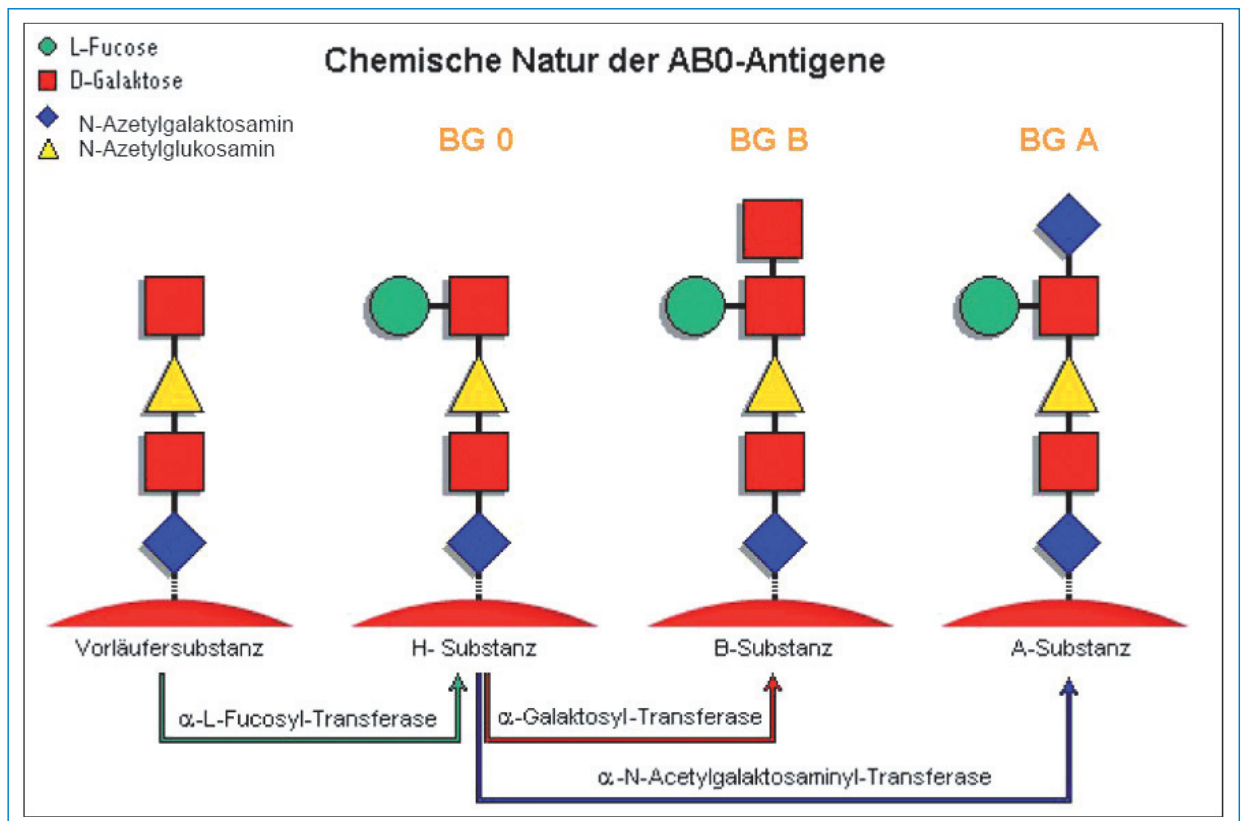



Abbildung 3
Chemische Natur der AB0-Antigene (modifiziert: Immunobase, DiaMed).

Tabelle 1. Differentialdiagnostische Möglichkeiten für das Auftreten einer Doppelpopulation.

Labortechnische Fehler	z.B. beim Pipettieren
Blutgruppenungleiche Transfusion (inkl. intrauterine Transfusion)	Zwei Zellpopulationen vorhanden
Transplantation blutgruppenungleicher Stammzellen	Zwei Zellpopulationen vorhanden
Schwangerschaft	Fetomaternale oder seltener maternofetale Übertragung von Zellen
Zwillingsschwangerschaften (angeborener Chimärismus)	Zweieiige Zwillinge mit Gefäss-anastomosen
Spezielle AB0-Antigene (A3 oder B3)	Zeigen eine sehr schwache Ag-Expression und werden daher häufig nicht identifiziert
Neugeborene	Unreifer Metabolismus, Transferasen funktionieren noch nicht
Hohes Lebensalter	Tendenz zu geringen A- und B-Antigendichten
Hämato-onkologische Erkrankungen wie z.B. myeloproliferative Neoplasien (PV, ET, PMF), myeloische Leukämien	Antigenverlust (wie im Text beschrieben)

- «epigenetische» DNA-Methylierung des AB0-Promotors, wodurch Gene mit Kontrollfunktion abgeschaltet werden [1, 2].
 - Loss of heterozygosity (LOH, «Verlust der Heterozygotie») am Rh-Genlocus auf Chromosom 1 [3].
- Trifft man im klinischen Alltag auf eine Doppelpopulation, so ist an die in Tabelle 1  zusammengefassten möglichen Ursachen zu denken. Von diesen verschiedenen Ursachen für abgeschwächte/fehlende Blutgruppenantigene kommt bei unserem Patienten nur der Antigenverlust im Rahmen der essentiellen Thrombozythämie in Frage. Die Beobachtung, dass intermittierend mindestens einmal keine Doppelpopulation mehr nachweisbar war, dürfte retrospektiv beurteilt auf eine kurz vorher erfolgte EK-Transfusion zurückzuführen sein, die zu einer Verdünnung der vom Antigenverlust betroffenen Erythrozyten geführt hat.

Fazit: Abgeschwächte oder fehlende Blutgruppenantigene können nicht nur konstitutionell bedingt sein – in Assoziation mit unterschiedlichen Situationen beobachtet man immer wieder auch erworbene Fälle. Die Kenntnis der genauen Patientenanamnese, insbesondere allfälliger hämato-onkologischer Erkrankungen, ist für die Beurteilung von auffälligen immunhämatologischen Befunden von entscheidender Bedeutung.

Verdankung

Die Autoren danken Herrn PD Dr. Behrouz Mansouri, Medizinischer Direktor Blutspendedienst SRK und Leitender Arzt Bereich Transfusionsmedizin Inselspital Bern, für seine wertvollen Hinweise sowie Prof. Walter Wuillemin, Leitender Arzt Hämatologie Luzerner Kantonsspital, Luzern, für die Anregung zu diesem Artikel.

Korrespondenz:

Dr. med. Adrian Schmidt
 Facharzt für Innere Medizin und Hämatologie FMH
 Abteilung Hämatologie/Onkologie
 Kantonsspital Baden AG
 CH-5404 Baden
adrian.schmidt@ksb.ch

Literatur

- 1 Bianco-Miotto T, Hussey D, Day T, O'Keefe D, Dobrovic A. DNA Methylation of the ABO Promoter Underlies Loss of ABO Allelic Expression in a Significant Proportion of Leukemic Patients. *PLoS ONE*. 2009;4(3):e4788.
- 2 Bianco T, Farmer B, Sage R, Dobrovic A. Loss of red cell A, B and H antigens is frequent in myeloid malignancies. *Blood*. 2001;97:3633–9.
- 3 Körmöczy G, Dauber EM, Haas O, Legler T, Clausen F, Fritsch G, et al. Mosaicism due to Myeloid Lineage Restricted Loss of Heterozygosity as Cause of Spontaneous Rh Phenotype Splitting. *Blood*. 2007;110:2148–57.
- 4 Salmon C, Cartron JP, Lopez M, Rahuel C, Badet J, Janot C. Level of the A, B and H Blood Group Glycosyltransferases in red Cell Membranes From Patients With Malignant Hemopathies. *Rev Fr Transfus Immunohematol*. 1984;27:625–37.
- 5 Sheppard CA, O'Reilly KC, Schniederjan SD, Hillver CD, Roback JD. Transfusion Medicine Illustrated. Detection of Mixed-field-agglutination due to Loss of red Cell Antigen in Hematopoietic Malignancy. *Transfusion*. 2006;46:1463–4.