

Thomas H. Müller^{1,2}
 Michael Hallensleben¹
 Friedrich Schunter²
 Rainer Blasczyk¹

Molekulargenetische Blutgruppendiagnostik

Grundlagen und klinische Anwendungen

Zusammenfassung

In der Blutgruppendiagnostik ergänzen mittlerweile molekulargenetische Untersuchungen die Serologie als die zeit- und kosteneffiziente Standardmethodik. Am Beispiel des AB0- und des Rh-Systems als den klinisch bedeutsamsten Blutgruppen werden wesentliche molekularbiologische Grundlagen für diese Diagnostik erläutert. Der molekulargenetische Nachweis von Blutgruppenmerkmalen mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) erfordert keine Erythrozyten. Er kann deshalb besonders bei der Pränataldiagnostik, bei schwieriger Serodiagnostik nach Transfusionen oder bei Knochenmarktransplantierten klinisch relevante Informationen liefern. Sorgfältige Validierung und Qualitätssicherung der molekulargenetischen Nachweismethoden sind notwendig, um die Zuverlässigkeit dieser Techniken für den klinischen Einsatz zu garantieren.

Schlüsselwörter: Blutgruppe, Molekulargenetik, Molekularbiologie, Pränataldiagnostik, Massivtransfusion

Summary

DNA-typing of Blood Groups: Principles and Clinical Applications

Meanwhile DNA-typing supplements serotyping for blood group determinations. The molecular biology of the AB0- and the Rh-systems as the clinically most relevant blood groups is outlined. DNA analysis of blood group polymorphisms by polymerase chain reactions (PCR) does not require red blood cells. This approach provides valuable clinical information for prenatal diagnosis, in polytransfused patients or after bone marrow transplantation. Knowledge of the basic limitations, careful validation and quality assurance are imperative to ensure adequate reliability of these new methods for their clinical use.

Key words: blood groups, DNA-typing, molecular biology, prenatal diagnosis, polytransfusion

Vor hundert Jahren hat der Wiener Pathologe Karl Landsteiner in Agglutinationsversuchen die AB0-Blutgruppenmerkmale entdeckt. Er hat damit die Grundlage für den erfolgreichen klinischen Einsatz der Blutgruppenserologie gelegt und ist 1930 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet worden. Die Auswahl verträglicher Blutkomponenten für die Hämotherapie und die Blutgruppenbestimmungen in der Transplantationsmedizin beruhen nach wie vor auf dem serologischen Blutgruppennachweis. Die Gene für fast alle klinisch relevanten Blutgruppenmerkmale sind inzwischen identifiziert (17). Für spezielle Fragestellungen werden bereits molekulargenetische Methoden zur Blutgruppendiagnostik eingesetzt. Das Ziel dieser Übersicht ist es, am Beispiel der klinisch wichtigsten Blutgruppen den molekularbiologischen Hintergrund und die Möglichkeiten der Anwendung molekulargenetischer Blutgruppenuntersuchungen vorzustellen.

AB0-Blutgruppen

Die endständigen Zuckerreste der Kohlenhydratketten von Glykoproteinen und Glykolipiden an der Oberfläche von Zellen und in anderen Kompartimenten bestimmen die individuellen Merkmale im AB0-Blutgruppensystem. Spezifische Glykosyltransferasen, die als membrangebundene Proteine vorzugsweise im Golgi-Apparat lokalisiert sind, katalysieren diese Modifikation (Grafik 1). Die antigenen Eigenschaften im AB0-System werden deshalb nicht direkt vom genetischen Code der die Epitope tragenden Proteine determiniert, sondern durch die genetisch

festgelegte Präsenz und Aktivität von Zuckerreste übertragenden Enzymen (Glykosyltransferasen) bestimmt.

Die Übertragung des Substrates N-Acetyl-Galactosamin durch die $\alpha 1 \rightarrow 3$ N-Acetylgalactosaminyltransferase (kurz: A-Transferase) und von Galactose durch die $\alpha 1 \rightarrow 3$ Galactosyltransferase (kurz: B-Transferase) führt zu den Blutgruppenmerkmalen A und B (33).

Individuen, die weder über die A- noch über die B-Transferase verfügen, gehören bis auf äußerst seltene Ausnahmen (wie zum Beispiel den Bombay-Phänotyp) zur Blutgruppe 0. Personen, die nur eine der beiden Transferasen bilden, zeigen die Blutgruppe A beziehungsweise B. Menschen, die beide Transferasen aufweisen, besitzen die Blutgruppe AB.

Entsprechend werden die AB0-Merkmale eines Individuums durch die auf Chromosom 9q34 lokalisierten Gene für die A- und B-Transferasen festgelegt (12). Diese Gene bestehen aus sieben Exons mit 1 059 Basenpaaren. Bisher sind 26 Allele der AB0-Transferasen identifiziert (16). Die Gensequenzen von A^{1-1} und B^{1-1} als dem häufigstem Allel der A- beziehungsweise der B-Transferase unterscheiden sich nur in sieben Positionen, die mit dem Austausch von vier der insgesamt 353 Aminosäuren einhergehen (34, 35) (Tabelle 1).

Nur in zwei Nukleotiden unterscheidet sich das A^2 -Allel von dem häufigeren A^1 -Allel des Gens der A-Transferase: C \rightarrow T-Substitution in Position 467 und die Deletion eines Nukleotids in Position 1 059, die durch die Verschiebung des Leserasters zu einer um 21 Aminosäuren verlängerten Transferase führt (36) (Tabelle 1). Die Enzymaktivität der A_2 -Transferase ist deutlich (circa fünf- bis zehnfach) schwächer als die der vom A^1 -Gen kodierte Transferase. Deshalb erreicht die A-Antigendichte der Erythrozyten bei Individuen mit dem A^{20} - und A^2B -Genotyp (sero-

¹ Abteilung für Transfusionsmedizin (Leiter: Prof. Dr. med. Rainer Blasczyk) der Medizinischen Hochschule Hannover

² Institut Oldenburg, DRK-Blutspendedienst NSOB (Niedersachsen, Sachsen-Anhalt, Oldenburg, Bremen)

logisch A₂ beziehungsweise A₂B) im Mittel weniger als 20 Prozent der von Personen mit dem A¹O- beziehungsweise dem A¹B-Genotyp (28).

Personen mit der Blutgruppe 0 bilden keine funktionierende AB0-Transferase. Die meisten Personen mit der Blutgruppe 0 besitzen das 0¹-Allel des 0-Transferase-Gens. Die Sequenz des 0¹-Allel entspricht weitgehend dem A¹-Allel (33) (Tabelle 1). Allerdings führt die Deletion des Nukleotids in Position 261 zu einem vorzeitigen Stopkodon, sodass ein Protein aus nur 118 Aminosäuren und ohne Glykosyltransferase-Aktivität produziert werden könnte.

Es gibt bislang keinen Hinweis darauf, dass dieses Protein tatsächlich gebildet wird. Im Unterschied zum 0¹-Allel der 0-Transferase (mit 6 Varianten [25]) beruht die vernachlässigbare Aktivität der Transferase beim 0²-Allel (15, 37) auf dem Austausch einer für die Enzymaktivität kritischen Aminosäure und beim 0³-Allel (24) auf einer Insertion, die zu einem um 37 Aminosäuren längeren Produkt führen sollte (Tabelle 1).

AB0-Diagnostik

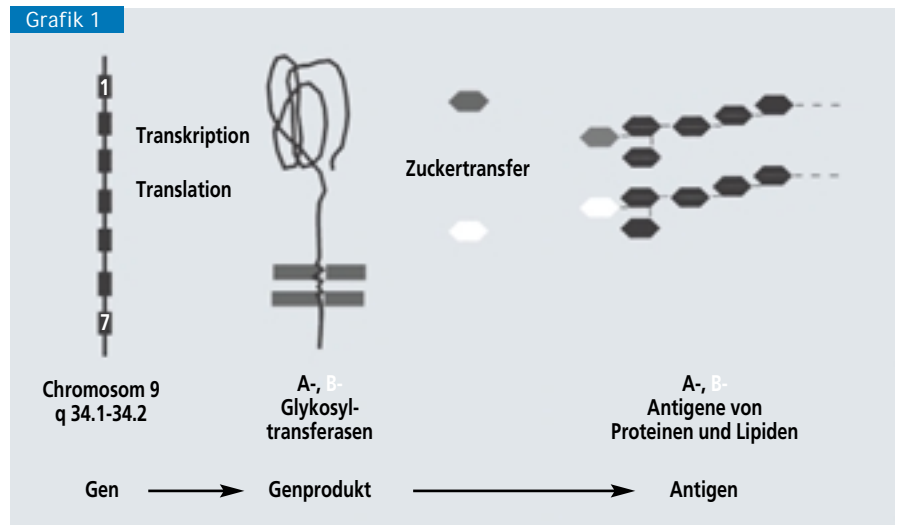
Die in Tabelle 1 dargestellten Unterschiede in der Nukleotidsequenz der AB0-Gene erlauben den direkten Nachweis der Gene mittels sequenzspezifischer PCR (14, 23, 38). Mit dieser Technik können die AB0-Merkmale eines Individuums zum Beispiel aus der DNA von Zellen eines Mundschleimhautabstrichs auch dann noch erfasst werden, wenn die Aussagekraft serologischer Untersuchungen beeinträchtigt ist. Zu den Anwendungen gehören neben forensischen Fragen zum Beispiel molekulargenetische Blutgruppenbestimmungen

- bei Neugeborenen, da bei ihnen die AB0-Antigenexpression unvollständig entwickelt ist und die Antikörper passiv von der Mutter erworben sein können,
- bei Überlagerung des ursprünglichen Serotyps nach wiederholten oder massiven Transfusionen von Fremderozyten (9, 18, 26, 32) oder
- zum Monitoring nach AB0-differenter Knochenmarkstransplantation.

Rh-Blutgruppen

Auf dem Chromosom 1 im Bereich 1p34 bis p36 (7) liegen die beiden RH-Gene (RHCE und RHD, Grafik 2) nebeneinander. Sie kodieren die korrespondierenden Proteinen RhCcEe und RhD und definieren somit im Unterschied zu den AB0-Genprodukten direkt die An-

Die vier häufigeren Allele des RHCE-Gens stimmen in ihren kodierenden Abschnitten fast vollständig überein. Die Nukleotide in Position 307 (T oder C) und in Position 676 (C oder G) legen die Aminosäure in Position 103 (Ser oder Pro) und in Position 226 (Pro oder Ala) fest (Grafik 2). Diese Aminosäuren in den extrazellulären



Genetische Kontrolle der AB0-Blutgruppen. Es wird der Informationsfluss von den AB0-Genen mit sieben Exons über die Glykosyltransferasen zu den AB-Antigenen gezeigt. Die Präsenz des A-, B- oder 0-Gens im Chromosom 9 entscheidet, welches der die Zuckerreste übertragenden Enzyme gebildet wird. Erst im zweiten Schritt entsteht dann mithilfe des Enzyms (Genprodukt) das A- oder B-Antigen. Bei Personen der Blutgruppe 0 fehlen sowohl die A- als auch die B-Transferase, sodass weder A- noch B-Antigene gebildet werden können. Diese indirekte Festlegung der Antigene durch die Gene unterscheidet das AB0- von den meisten anderen Blutgruppensystemen, bei denen, wie in Grafik 2 für Rh-Antigene gezeigt, das Gen direkt das Antigen kodiert. Die molekulargenetische Analyse erlaubt anhand der in Tabelle 1 zusammengestellten Sequenzunterschiede der AB0-Gene sogar dann die AB0-Blutgruppen zu ermitteln, wenn antigentragendes Material nicht zur Verfügung steht, oder, wie beim Neugeborenen, die Antigene noch nicht vollständig entwickelt sind.

tigene des Rh-Systems. Die Rh-Polypeptide (jeweils 417 Aminosäuren) werden nicht glykosyliert. Sie sind mit zwölf Abschnitten in die Zellmembran eingebettet (Grafik 2). Sie bilden einen Rh-Komplex (10) aus zwei Rh-Proteinen und zwei Molekülen des Rh-assoziierten Glykoproteins (409 Aminosäuren). Auch wenn die Struktur des Rh-Komplexes eine Funktion als Transporter nahelegt (20), ist die Funktion des Rh-Komplexes bislang nicht geklärt. Rh-Proteine sind nur auf den Erythrozyten und ihren Vorläuferzellen nachzuweisen. Im Wesentlichen unterscheiden wir mit D-positiven und D-negativen Individuen zwei D-Serotypen. Alle Menschen (bis auf extrem seltene Ausnahmen) exprimieren C- oder c- und E- oder e-Antigene auf ihren Erythrozyten.

Positionen 103 und 226 haben wesentliche Bedeutung für die serologischen Merkmale C und c beziehungsweise E und e (22). Falls die beiden RHCE-Allele nicht identisch sind (und bis auf andere extrem seltene Ausnahmen), besitzt jeder Mensch zwei verschiedene RhCcEe-Proteine, die vor allem in Abhängigkeit von den Aminosäuren in den Positionen 103 und 226 die Antigene seines CcEe-Phänotyps festlegen.

Das RHD-Gen ähnelt in seinem Aufbau aus zehn Exons weitgehend den RHCE-Genen (Grafik 2) und ist vermutlich durch Genduplikation aus RHce entstanden (2). Die Nukleotidsequenz der Exons des RHD-Gens unterscheidet sich in weniger als zehn Prozent von derjenigen der RHCE-Gene.

Rund 18 Prozent der Europäer sind serologisch D-negativ. Bei fast allen sind die für das RHD-Gen spezifischen Sequenzen im Genom aufgrund einer Deletion nicht nachweisbar (30). Unter Afrikanern (< sieben Prozent) und Asiaten (< ein Prozent) sind D-negative Individuen seltener. Das RHD-Gen ist bei den meisten D-negativen Afrika-

nern als Pseudogen zu finden (29). Das Produkt des RHD-Gens weicht in 37 der 417 Aminosäuren von dem des Produkts des RHCE-Gens (ce-Allel) ab. Dieser Unterschied könnte die eindrucksvolle Immunogenität des D erklären. Die Immunisierungsrate D-negativer Personen nach Transfusion D-positiver Erythrozyten liegt bei 85 Pro-

zent innerhalb von sechs Monaten (21). Deshalb sollten außer in Notfällen stets D-kompatible Erythrozyten transfundiert werden. Wesentlich schwächer ist die Immunogenität von CE. Weniger als fünf Prozent der ce-Individuen entwickeln Antikörper nach Transfusion C- oder E-positiver Erythrozyten. Deshalb erscheint eine prophylaktische

Tabelle 1																							
Polymorphismus des ABO-Gens: Nukleotidsubstitutionen in Exons 6 und 7																							
Exon	6						7																
Nukleotidposition	261	297	467	526	564	579	641	646	657	669	681	703	721	771	796	802	803	829	871	930	1054	1059	
Blutgruppe A																							
A 1-1	G	A	C	C	C	T	T	T	C	G	G	G	C	C	C	G	G	G	G	G	C	C	
A 1-2			T																				
A 1-3			T		T																		
A 1-4	G																						
A 2			T																				
A 3																			A				del
A x								A															
A Str				G																			
A el																							Insertion 798/804
cis AB			T														C						
Blutgruppe B																							
B 1-1		G		G					T			A			A		C			A			
B 1-2		G		G					T			A			A		C						
B 1-3		G		G								A			A		C			A			
B (A)		G		G								A			A		C			A			
B 3		G		G					T			A			A		C			A	T		
B x		G		G					T			A			A		C			A			
B el		G		G			G		T			A			A		C		A				
Blutgruppe 0																							
0 1	del							A						T									
0 1v-1	del	G						A				A								A			
0 1v-2	del					C																	
0 1v-3	del	G																					
0 1v-4	del							A															
0 1v-5	del	G						A				A								A			
0 1v-6	del	G						A				A								A			
0 2		G		G																			
0 3			T	G												A							
Aminosäureaustausch	vorzeitiger Stop		Pro -> Leu	Arg -> Gly			Met -> Arg	Phe -> Ile	Glu -> Asp	Gly -> Ser	Arg -> Trp		Leu -> Met	Gly -> Arg	Gly -> Ala		Asp -> Asn		Arg -> Trp			um 21AS verlängert	um 37AS verlängert

* Die zweite Zeile beschreibt die Nukleotidpositionen in der mRNA, die letzte Zeile den durch den Nukleotid austausch im Vergleich zum Referenzallel A 1-1 verursachten Aminosäureaustausch. Ein großer Teil der Nukleotidvariationen führt zu keinem Aminosäureaustausch (synonyme Mutationen). del, Deletion; As, Aminosäure

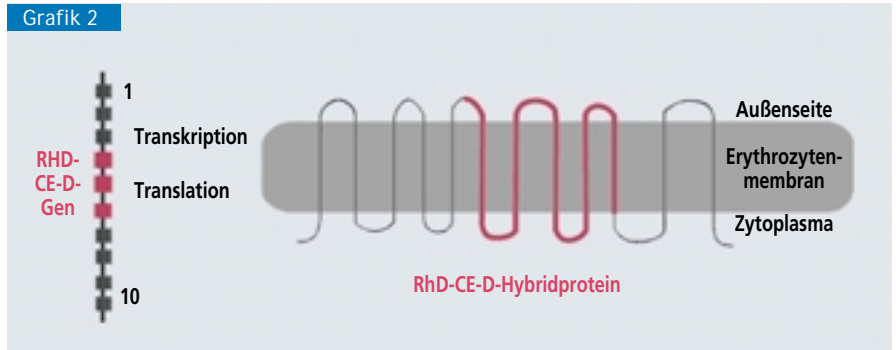
Berücksichtigung der CcEe-Merkmale – wenn überhaupt – nur bei der Hämotherapie von Frauen vor und im gebärfähigen Alter oder bei Patienten mit langfristigem Transfusionsbedarf sinnvoll.

In seltenen Fällen entwickeln D-positive Personen Alloantikörper gegen D. Serologisch wurde dieser überraschende Befund damit erklärt, dass bei diesen als Partial-D-Typen bezeichneten D-Varianten (*Tabelle 2*) die Antigenstruktur qualitativ verändert ist. Innerhalb der D-Varianten werden von den Partial-D-Typen die Weak-D-Typen (bei 0,2 bis zu 1 Prozent der Europäer) unterschieden, die nur von besonders sensitiven serologischen Tests als D-positiv erfasst werden und für die ursprünglich rein quantitative Verminderungen der Zahl der D-Antigene pro Erythrozyt vermutet wurden.

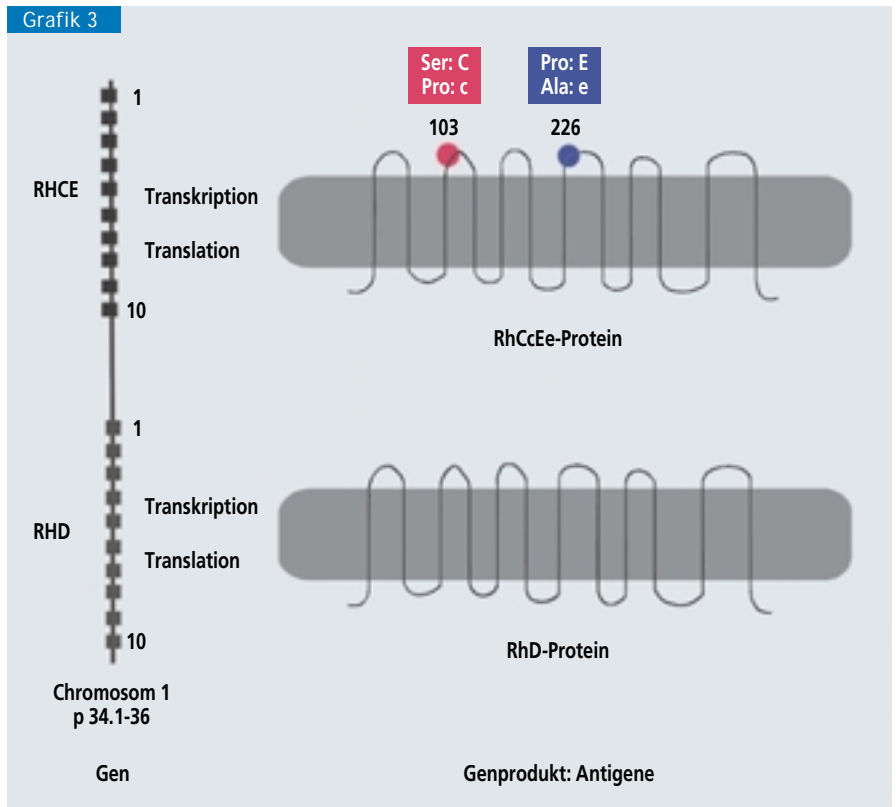
Molekulargenetische Untersuchungen dieser D-Varianten haben inzwischen gezeigt, dass Punktmutationen sowohl Partial-D- als auch Weak-D-Phänotypen verursachen (3, 31) (*Tabelle 3*). Bei einigen der Partial-D-Typen sind ein oder mehrere Exons des RHD-Gens gegen die korrespondierenden Segmente eines RHCE-Gens ausgetauscht, sodass RhD-CE-D-Fusionsproteine gebildet werden (3, 27) (*Grafik 3, Tabelle 3*). In diesen Fusionsproteinen fehlen Epitope des kompletten RhD-Proteins. Deshalb können Individuen mit derartigen Partial-D-Typen (zum Beispiel mit der klinisch bedeutsamsten D-Kategorie VI [DVI]) durch Transfusion von Erythrozyten mit dem kompletten RhD-Protein immunisiert werden.

Aufgrund dieser Problematik schreiben die Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion vor, dass zur serologischen D-Bestimmung bei Patienten stets zwei unterschiedliche Antikörper eingesetzt werden müssen, die beide das RhD-CE-D-Protein der Erythrozyten von DVI-Individuen nicht erkennen dürfen. Dies Vorgehen stellt sicher, dass zumindest DVI-Patienten als D-negativ typisiert und mit D-negativem Blut versorgt werden.

Die molekulargenetischen Befunde in *Tabelle 3* zeigen, dass die molekulare Grundlage für Weak-D- und Partial-D-Typen zum Teil übereinstimmt. Die



Genetische Kontrolle der Rh-Blutgruppen. Die im Chromosom 1 benachbarten RH-Gene mit jeweils zehn Exons legen direkt die Aminosäuresequenz der mit zwölf Abschnitten in die Erythrozytenmembran integrierten RhCcEe- und RhD-Proteine fest. Die Aminosäuren in den extrazellulären Positionen 103 und 226 des RhCcEe-Proteins bestimmen wesentlich die CcEe-Antigenmerkmale. Das RhD-Protein, als der Träger der D-Antigene, unterscheidet sich in circa 37 seiner 417 Aminosäuren (die zur Vereinfachung nicht einzeln, sondern durch die Farbunterschiede des Gesamtproteins dargestellt sind) von den RhCcEe-Proteinen. Bei D-negativen Europäern fehlt (bis auf seltene Ausnahmen) das RHD-Gen (30). Die molekulargenetische Analyse bietet deshalb eine elegante und zuverlässige Methode, anhand des RHD-Gennachweises das zu erwartende D-Antigen bereits pränatal anhand der DNA zu ermitteln.



RHD-CE-D-Hybridgen als molekulare Grundlage einer D-Variante (Partial-D-Phänotyp). Der Austausch der Exons 4 bis 6 des RHD-Gens durch die entsprechenden Exons eines RHCE-Gens (siehe *Grafik 2*) bei der D-Kategorie VI (DVI) liefert ein Fusionsprotein (die rote Linie entspricht den Abschnitten des RhD-Proteins, die schwarze einem Abschnitt eines RhCcEe-Proteins). Dem Fusionsprotein fehlen mehrere Epitope des vollständigen RhD-Proteins. Deshalb können Individuen mit derartigen D-Varianten im Rahmen einer Schwangerschaft oder nach Transfusion D-positiver Erythrozyten immunisiert werden und D-Alloantikörper gegen fehlende Epitope entwickeln. Um diese Komplikation zu verhindern, schreiben die Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion vor, dass zur serologischen D-Bestimmung bei Patienten stets zwei unterschiedliche Antikörper eingesetzt werden müssen, die beide das RhD-CE-D-Fusionsprotein der Erythrozyten von DVI-Individuen nicht erkennen dürfen. Dank dieser Strategie werden DVI-Individuen als „D-negativ“ typisiert, sodass sie keine D-positiven Erythrozytenhaltigen Konserven empfangen und eine D-Immunsierung vermieden wird.

Tabelle 2

Serologische Klassifikation von RhD-Varianten

Phänotyp	Beispiele	molekularer Mechanismus*1
Partial D		
D-Kategorien	D-Kategorien: Typ II bis VII	Hybridgene*2, Punktmutation(en)
andere partial D-Typen	DFR, DHMi, DNU und andere	Hybridgene*2, Punktmutation(en)
Weak D	Weak D: Typ 1 bis 22	Punktmutation(en)

*1 siehe Tabelle 3, *2 siehe Grafik 3

Tabelle 3

Molekulare Grundlage ausgewählter D-Varianten

DNA-Typ	RhD-Phänotyp	D-Serotyp
Hybridgene		
RHD-CE (Exonbereich)-D		
D-CE(3)-D	—	D ^{IIIc}
D-CE(3, 4, 5, 6)-D	—	D ^{VI} , Typ III
D-CE(4)-D	—	DFR Typ I
D-CE(4, 5)-D	—	D ^{VI} Typ I
D-CE(4, 5, 6)-D	—	D ^{VI} Typ II
D-CE(5)-D	—	D ^{Va} Typ II
D-CE(5, 6, 7)-D	—	DBT Typ I
Punktmutationen		
Nukleotidsubstitution in Position	Aminosäuresubstitution in Position	
C 8 G	Ser 3 Cys	weak D Typ 3
T 329 C	Leu 110 Pro	D ^{VII}
A 497 C	His 166 Pro	DFW
G 686 A	Arg 229 Lys	DHR
T 809 G	Val 270 Gly	weak D Typ 1
C 848 T	Thr 283 Ile	DHMi
G 1057 A	Gly 353 Arg	DNU
C 1061 A	Ala 354 Asp	D ^{II}
G 1063 A	Gly 355 Ser	DNB
G 1154 C	Gly 385 Ala	weak D Typ 2

Zur besseren Übersicht werden nur Beispiele von D-Varianten, die durch Hybridgene und singuläre Punktmutationen verursacht werden, gezeigt. Einige D-Varianten (zum Beispiel D^{IIIa} und weak D Typ 4) werden auch durch multiple Punktmutationen verursacht. Bei einigen der Partial-D-Typen sind ein oder mehrere Exons des RHD-Gens gegen die korrespondierenden Segmente eines RHCE-Gens ausgetauscht (Hybridgene), sodass RHD-CE-D-Fusionsproteine gebildet werden (Grafik 3). In diesen Fusionsproteinen fehlen Epitope des kompletten RhD-Proteins. Deshalb können Individuen mit derartigen Partial-D-Typen (zum Beispiel mit der klinisch bedeutsamen D-Kategorie VI [D^{VII}]) durch Transfusion von Erythrozyten mit dem kompletten D-Protein immunisiert werden. Die Liste der Beispiele für Punktmutationen zeigt, dass die molekulare Grundlage für Weak-D- und Partial-D-Typen zum Teil übereinstimmt. Die Aminosäuresubstitutionen bei Weak-D-Typen sind jedoch auf intrazelluläre und Membranabschnitte des RhD-Proteins beschränkt. Dennoch können D-Alloimmunisierungen auch bei Personen mit einem der Weak-D-Typen grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden.

Aminosäuresubstitutionen bei Weak-D-Typen sind auf intrazelluläre und Membranabschnitte des RhD-Proteins beschränkt. Dennoch können D-Alloimmunisierungen auch bei Personen mit einem der Weak-D-Typen grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden. Es bleibt somit die wichtige Aufgabe, das Immunisierungspotenzial der molekulargenetisch charakterisierten D-Varianten konsequent zu erfassen, um die D-Varianten anhand dieser klinisch relevanten Qualität langfristig überzeugender zu klassifizieren.

RH-Nachweis

Die derzeit klinisch bedeutsamste Anwendung der molekulargenetischen Blutgruppenuntersuchung (13) ist die pränatale RH-Bestimmung. Ungefähr der Hälfte aller Fälle einer Alloimmunisierung der Mutter durch fetale Blutgruppenantigene beruhen auf einer D-Inkompatibilität. Frühzeitige zuverlässige Information über den DCE-Status des Kindes hilft, potenziell DCE-inkompatibler Risikoschwangerschaften optimal zu betreuen.

Eine serologische Untersuchung der fetalen Zellen erfordert die Entnahme einer Blutprobe aus der Nabelschnur. Dieser Eingriff ist jedoch riskanter als eine Amniozentese oder Chorionzottenentnahme und birgt die Gefahr einer (verstärkten) Immunisierung der Mutter. Seit 1993 werden deshalb PCR-Untersuchungen zum Nachweis der RH-Gene in der aus fetalen Zellen isolierten DNA eingesetzt (4). In Anbetracht der komplexen Molekulargenetik seltener D-Varianten ist es notwendig, mehrere Abschnitte des RHD-Gens mit der PCR zu untersuchen (8). Unter Beachtung dieser Problematik und bei angemessener Präanalytik kann das erfahrene Labor den RH-Status zuverlässig ermitteln. Erste in Europa durchgeführte Ringversuche zur molekulargenetischen RH-Diagnostik belegen sehr geringe Fehlerraten (6). Bei Eltern mit nichteuropäischer Abstammung schränken nichtexprimierte RHD-Gene die Aussagekraft dieser Diagnostik stark ein.

Neuere Ergebnisse lassen erwarten, dass in Zukunft auch peripheres Blut

der Mutter (11, 19) oder Zervixabstriche (1) zur Isolierung fetaler DNA eingesetzt werden. Die aus wenigen Zellen extrahierte DNA-Menge genügt für die Untersuchung mit hochempfindlichen PCR-Methoden, wie nested PCR oder TaqMan-PCR mit fluoreszierenden Sonden (19). Negative Ergebnisse bei diesem nichtinvasiven Vorgehen sind bisher jedoch nicht eindeutig zu bewerten, da offen bleibt, ob die Probe überhaupt fetale DNA enthielt und inwieweit sie durch fetale Zellen aus früheren Schwangerschaften (5) kontaminiert ist.

Ausblick

Molekulargenetische Untersuchungen haben unser Verständnis von Blutgruppen wesentlich erweitert. Erste klinische Anwendungen der molekulargenetischen Blutgruppendiagnostik belegen ihre faszinierende Leistungsfähigkeit insbesondere für die pränatale Medizin. Die Komplexität der Blutgruppensysteme verdeutlicht gleichzeitig die hohen Ansprüche für die valide Beurteilung der Ergebnisse und die Grenzen molekulargenetischer Diagnostik. Die Kosten und der Aufwand für diese Diagnostik liegen zurzeit noch deutlich über denen der Serologie. Dennoch erwarten wir, dass sich in der transfusionsmedizinischen Routine neben der virologischen und der immunogenetischen Diagnostik langfristig auch die Immunhämatologie molekulargenetischer Techniken bedienen wird.

Die Autoren danken für die Zusammenarbeit den Kollegen Dres. W.A. Flegel, C. Gassner und F.F. Wagner und allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe PCR der Sektion Immunhämatologie und Gentechnik der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie.

■ Zitierweise dieses Beitrags:
Dt. Ärztebl 2001; 98: A 317–322 [Heft 6]

Die Zahlen in Klammern beziehen sich auf das Literaturverzeichnis, das über den Sonderdruck beim Verfasser und über das Internet (www.aerzteblatt.de) erhältlich ist.

Anschrift für die Verfasser:
Prof. Dr. med. Rainer Blasczyk
Abteilung für Transfusionsmedizin
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Straße 1
30625 Hannover

Referiert

Kein Zusammenhang zwischen Passivrauchen und Brustkrebs

Der Zusammenhang zwischen Passivrauchen und Brustkrebsrisiko wurde in einer prospektiven Studie überprüft. Von 146 488 verheirateten Nichtraucherinnen, die zu Studienbeginn 1982 ohne Brustkrebsbefund waren und während der Dauer der Untersuchung den Ehepartner nicht gewechselt hatten, waren nach zwölf Jahren 669 an einem Mammakarzinom gestorben. Nichtraucherinnen, die einen Raucher zum Ehemann hatten, wurden mit Nichtraucherinnen verglichen, die mit einem Nichtraucher verheiratet waren. Eine Korrelation zwischen Brustkrebsmortalität und Rauchverhalten des Ehemanns konnte nicht nachgewiesen werden. Das relative Sterberisiko (RR) an Brustkrebs durch Passivrauchen betrug 1,0 (95-Prozent-Vertrauensintervall = 0,8–1,2). Das Ergebnis ist nicht signifikant. Bei Frauen, die ihren rauchenden Partner vor dem 20. Lebensjahr geheiratet hatten, ergab sich eine geringe, ebenfalls nicht signifikante Risikosteigerung von 1,2 (95-Prozent-Vertrauensintervall = 0,8–1,8). Höhe und Dauer der Tabakrauchbelastung, ausgedrückt durch Anzahl der täglich

gerauchten Zigaretten, Rauchdauer in Jahren und „Packungsjahre“, hatten generell keinen risikosteigernden Einfluss auf die Brustkrebsmortalität. Einzig für Nichtraucherinnen, deren Ehepartner 11 bis 20 Jahre geraucht hatten, wurde eine statistisch signifikante Risikosteigerung ermittelt, die aber bei Ehepartnern mit Raucherkarrieren von 21 bis 30 Jahren beziehungsweise 31 Jahren und darüber nicht mehr beobachtet wurde. Im Unterschied zu vorangegangenen Arbeiten hat die neue US-Studie einen Zusammenhang zwischen Brustkrebsrisiko und Passivrauchen nicht bestätigt. Die Autoren halten das Ergebnis deshalb für besonders überzeugend, weil es sich um eine prospektive Studie handelte, die Fallzahl der an Mammakarzinom gestorbenen passivrauchbelasteten Nichtraucherinnen relativ groß war und Aussagen über die Passivrauchexposition überwiegend von den Ehepartnern selbst und nicht von Verwandten gemacht wurden.

zpa

Daniel Wartenberg et al.: Passive smoking exposure and female breast cancer mortality. *J National Cancer Institute* 2000; 92: 1666–1673.

Referiert

M. Crohn: Azathioprin und Lymphomrisiko

Unter einer Therapie mit Azathioprin und seinem Metaboliten 6-Mercaptopurin können Non-Hodgkin-Lymphome auftreten. Beim Morbus Crohn mit einer Häufigkeit von 133 Fällen pro 100 000 Personen wird diese immunmodulatorische Substanz in zunehmendem Maße eingesetzt, müssen doch 30 Prozent der Patienten innerhalb von zehn Jahren nach Diagnosestellung einer operativen Therapie zugeführt werden. In drei großen Studien mit über 1 300 Patienten traten zwei Fälle von Lymphomen auf, nur in einem Fall verlief diese Erkrankung tödlich. Die Autoren führten eine Entscheidungsanalyse durch, ob das Risiko einer Lymphomentwicklung in Kauf genommen werden kann, wenn die durchschnittliche Lebenserwartung durch die Azathioprin-

medikation verlängert wird. Das Ergebnis ist eindeutig: Insbesondere junge Patienten profitieren von der Azathioprinbehandlung, da sie das niedrigste Risiko für die Entwicklung eines Non-Hodgkin-Lymphoms aufweisen.

w

Lewis JD, Schwarz JS, Lichtenstein GR: Azathioprine for maintenance of remission in crohn's disease: benefits outweigh the risk of lymphoma. *Gastroenterology* 2000; 118: 1018–1024.

Dr. James D. Lewis, University of Pennsylvania, Center for Clinical Epidemiology and Biostatistics, 9th Floor Blockley Hall, 423 Guardian Drive, Philadelphia, Pennsylvania 19104-6021, USA.