



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Clinical determinants of red cell alloimmunization, implications for preventative antigen matching strategies**

Evers, D.

### **Citation**

Evers, D. (2017, December 19). *Clinical determinants of red cell alloimmunization, implications for preventative antigen matching strategies*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/59502>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/59502>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The following handle holds various files of this Leiden University dissertation:

<http://hdl.handle.net/1887/59502>

**Author:** Evers, D.

**Title:** Clinical determinants of red cell alloimmunization, implications for preventative antigen matching strategies

**Issue Date:** 2017-12-19

# 8

## NEDERLANDSE SAMENVATTING



In Nederland doneren jaarlijks meer dan 300.000 donoren bloed. Rode bloedcel transfusies vormen een essentieel onderdeel van de behandeling van patiënten bij wie de aanmaak van bloed gecompromitteerd is of bij wie sprake is van anemie door acuut of chronisch bloedverlies.

Rode bloedcellen bevatten op de buitenmembraan van de cel diverse eiwit-, vet- en suikerstructuren. Deze structuren kunnen tussen individuen onderling in geringe mate verschillen. Voorbeelden hiervan zijn de suikerstructuren die het ABO bloedgroep systeem vormen en het Rhesus (Rh) D eiwit. Naast het ABO en Rh bloedgroep systeem zijn er inmiddels nog 34 andere bloedgroep systemen geïdentificeerd met hierin in totaal meer dan 340 structuren die als een bloedgroep antigen zijn benoemd. Door het polymorfisme van deze membraanstructuren kan het ontvangen van rode bloedcellen met daarop voor de ontvanger onbekende antigenen een activatie van het immuunsysteem induceren met als resultaat de vorming van antistoffen gericht tegen deze onbekende antigenen. Bij een herexpositie aan het onbekende antigeen door bijvoorbeeld transfusie of zwangerschap zal het immuunsysteem door haar geheugencapaciteit in korte tijd gestimuleerd worden tot productie van hoge titers antistoffen met als gevolg dat de getransfundeerde bloedcellen intravasaal en/of extravasaal afgebroken worden. Een dergelijke acute hemolytische transfusiereactie kan zeer ernstig verlopen met zelfs dodelijke afloop. Het is daarom standaard praktijk om ABO en RhD compatibel bloed te transfunderen, gezien antistoffen tegen met name deze antigenen gemakkelijk zeer ernstige reacties kunnen induceren. Patiënten met een hoog risico op het vormen van antistoffen of voor wie de gevolgen van alloimmunisatie desastreus kunnen zijn ontvangen daarnaast ook bloed dat compatibel is voor andere Rh antigenen en voor het K antigen. Ondanks het effect van deze preventieve maatregelen vormen toch vele patiënten rode bloedcel antistoffen.

Dit proefschrift beschrijft studies naar de determinanten van rode bloedcel alloimmunisatie. Identificatie van deze determinanten stelt ons in staat om voor de individuele patiënt voorafgaand aan de bloedtransfusie een inschatting van het risico op antistofvorming te maken. Daarmee kan het huidige meer gegeneraliseerde matchingsbeleid omgebogen worden naar een patiëntspecifieke strategie met naar verwachting een reductie van antistofvorming en haar klinische en logistieke gevolgen.

**Hoofdstuk 1** geeft een algemene inleiding van dit proefschrift. Het beschrijft de huidige kennis en stand van zaken met betrekking tot de pathogenese van rode bloedcel alloimmunisatie, haar klinische consequenties, methoden ter diagnostiek en huidige maatregelen ter preventie. Ten aanzien van de pathogenese spelen zowel het aangeboren als het adaptieve immuunsysteem een essentiële rol waarbij dendritische cellen in de milt een belangrijke link tussen beide systemen vormen. Andere factoren van invloed op rode bloedcel alloimmunisatie die achtereenvolgens toegelicht worden zijn: 1. de kans op blootstelling aan een onbekend rode bloedcel antigen; 2. de potentie van dit rode bloedcel antigen om het immuunsysteem te stimuleren tot antistof productie ('antigen immunogeniciteit'); 3. de genetische constitutie van de patiënt waarbij voor onder andere

diverse polymorfismen in HLA klasse II een associatie met antistof vorming na rode bloedcel transfusies is gevonden; 4. klinische condities als hemoglobinopathieën die vaak gepaard gaan met een hoge mate van antigen dispariteit tussen donor en ontvanger en daarnaast gekenmerkt worden door een chronische inflammatie.

In **hoofdstuk 2** illustreren wij dat bijna 8% van de veelvuldig getransfundeerde patiënten alloantistoffen vormen, met name gericht tegen het K, E, Jk<sup>a</sup> en c antigen. Uitbreiding van het standaard ABO/RhD matchingsbeleid gericht op deze antigenen zou 74% van alle alloimmunisaties voorkomen, maar brengt uiteraard ook aanzienlijke kosten en logistieke beperkingen met zich mee. Voorwaarden voor antistofvorming betreffen blootstelling aan een onbekend antigen als ook een zekere mate van immunogeniciteit van dit antigen. In het verleden is deze antigen immunogeniciteit in meerdere studies geschat met de zogenaamde 'Giblett rekenmethode'. Wij bespreken diverse kanttekeningen van deze op *prevalentie*cijfers gebaseerde methode en leveren een alternatieve rekenmethode. Deze schat de immunogeniciteit van rode bloedcel antigenen op basis van *incidentie*cijfers uitgezet tegen geobjectiveerde blootstelling van het voor de ontvanger onbekende antigen. Hierbij tonen wij aan dat K het meest potente antigen is, gevolgd door E, C<sup>w</sup>, e, Jk<sup>a</sup> en c. Het antigen Fy<sup>a</sup> blijkt in een niet-Kaukasische bevolking weinig immunogeen. Met name de bevindingen rondom anti-Jk<sup>a</sup> vorming zijn opvallend en, mede ook gezien haar complementbindende vermogen, van belang voor de huidige praktijk waarin Jk<sup>a</sup> matching tot heden nog geen hoge prioriteit verdiende.

In **hoofdstuk 3 tot 6** bespreken wij achtereenvolgens diverse klinische condities die van invloed zijn gebleken op het vormen van rode bloedcel antistoffen.

Muizenexperimenten hebben bij herhaling laten zien dat een transfusie welke ontvangen wordt tijdens een door een synthetisch viraal peptide geïnduceerde inflammatoire conditie leidt tot een versterkte alloimmunisatie respons. In analogie hieraan tonen wij in **hoofdstuk 3** aan dat rode bloedcel alloimmunisatie gemoduleerd wordt door infectieuze condities, namelijk het type infectie, de intensiteit van deze infectie en de inflammatoire respons van de patiënt op deze infectie. Wij vonden een verhoogde incidentie van alloimmunisatie in patiënten die ten tijde van ernstige bacteriële en virale infecties rode bloedcel transfusies ontvingen. Opvallend, maar ook nu in lijn met eerdere bevindingen in muizenexperimenten, vertoonden juist patiënten met Gram-negatieve bacteremiën een tweevoudige reductie van alloimmunisatie incidentie. Het lijkt dus aannemelijk te concluderen dat een specifieke inflammatoire stimulus leidt tot een specifieke immunologische uitkomst. Wij hypothetiseren een belangrijke rol voor de diverse 'Toll-Like Receptoren' die elk een specifieke intracellulaire signaalcascade kunnen aanzetten en daarmee kunnen leiden tot een uniek gen expressie profiel. Daarmee is het zelfs niet ondenkbaar dat infecties met micro-organismen van verschillende species een verschillende uitwerking op rode bloedcel alloimmunisatie hebben. Toekomstige grootschalige epidemiologische studies zullen hopelijk dit vraagstuk beantwoorden en daarmee een matchingstrategie uitgaande van een uniek klinisch inflammatoir fenotype van de patiënt doen optimaliseren.

**Hoofdstuk 4** bespreekt de rol van de milt, een orgaan van belang voor B cel maturatie en ontwikkeling van IgM 'memory B cellen'. Mede gezien de milt de verbinding vormt tussen de bloed- en lymfecirculatie, is deze essentieel gebleken in de vorming van antistoffen tegen autologe en allogene hematopoëtische celantigenen. Onze studie toont aan dat rode bloedcel alloimmunisatie zeer onwaarschijnlijk (maar niet uitgesloten) is na het ondergaan van een chirurgische splenectomie. Slechts één patiënt binnen een (geschat) cohort van 443 patiënten (0.23%) vormde alloantistoffen tegen rode bloedcel antigenen na een splenectomie, overeenkomend met een 20-voudig verlaagd risico. Na een splenectomie lijkt additioneel antigeen matching dus niet van meerwaarde te zijn voor de Kaukasische patiënt. Alhoewel deze resultaten aansluiten bij de kennis omtrent de immunologische functie van de milt en eerder vergelijkbare conclusies zijn getrokken na splenectomie experimenten met muizen, hebben enkele retrospectieve, observationele studies in hemoglobinopathie patiënten juist een verhoogd risico op alloimmunisatie na splenectomie gesuggereerd. Andere studies vonden juist geen associatie. Wij bespreken mogelijke verklaringen voor de discrepantie van deze studies met onze bevindingen en hypothetiseren zelfs dat ook de hemoglobinopathie patiënt na chirurgische splenectomie dan wel met een functionele asplenie een gereduceerd (relatief) risico heeft op (additionele) antistof vorming. Omdat juist voor deze patiëntenpopulatie alloimmunisatie een ernstige bedreiging vormt van een optimale (transfusie)behandeling, is het van groot belang om onze bevindingen en conclusies te verifiëren in deze patiëntenpopulatie.

Als laatste illustreren wij in **hoofdstuk 5 en 6** de sterk beschermende rol van gebruik van immunosuppressieve middelen op rode bloedcel antistof vorming. In hoofdstuk 5 wordt dit besproken voor de algemeen getransfundeerde patiëntenpopulatie. Zelfs zonder correctie voor cumulatieve dosis van therapie vonden wij een vijfvoudige reductie van het risico op alloimmunisatie bij gebruik van corticosteroiden in combinatie met andere immunosuppressieve middelen. In hoofdstuk 6 wordt het risico op alloimmunisatie geanalyseerd voor de oncologische en hemato-oncologische patiëntenpopulatie. Mede door een therapie-geïnduceerde myelosuppressie ontvangen deze patiënten tijdens hun behandeling vaak een veelheid aan bloedtransfusies. Afhankelijk van de specifieke oncologische entiteit en de intensiteit van de benodigde therapie zal een zekere mate van immuungecompromitteerdheid ontstaan. Wij tonen aan dat patiënten met acute (myeloïde dan wel lymfatische) leukemie, met een myelodysplastisch syndroom (MDS), met een matuur B of T cel lymfoom, en patiënten na een autologe dan wel allogene hematopoëtische stamceltransplantatie allen een sterk verlaagd risico op alloimmunisatie hebben. Deze risicoreductie is toe te schrijven aan het sterk immuunsuppressieve karakter van de behandeling. Patiënten met deze ziekte entiteiten die om welke reden dan ook geen behandeling ondergingen, toonden een risico dat vergelijkbaar is met de algemene getransfundeerde bevolking. Daarmee dienen wij kritisch te kijken naar het huidige matchingsbeleid van MDS patiënten. Op basis van onze resultaten adviseren wij dat zowel de (geschatte) transfusie behoefte als ook het krijgen van een immuunsuppressieve

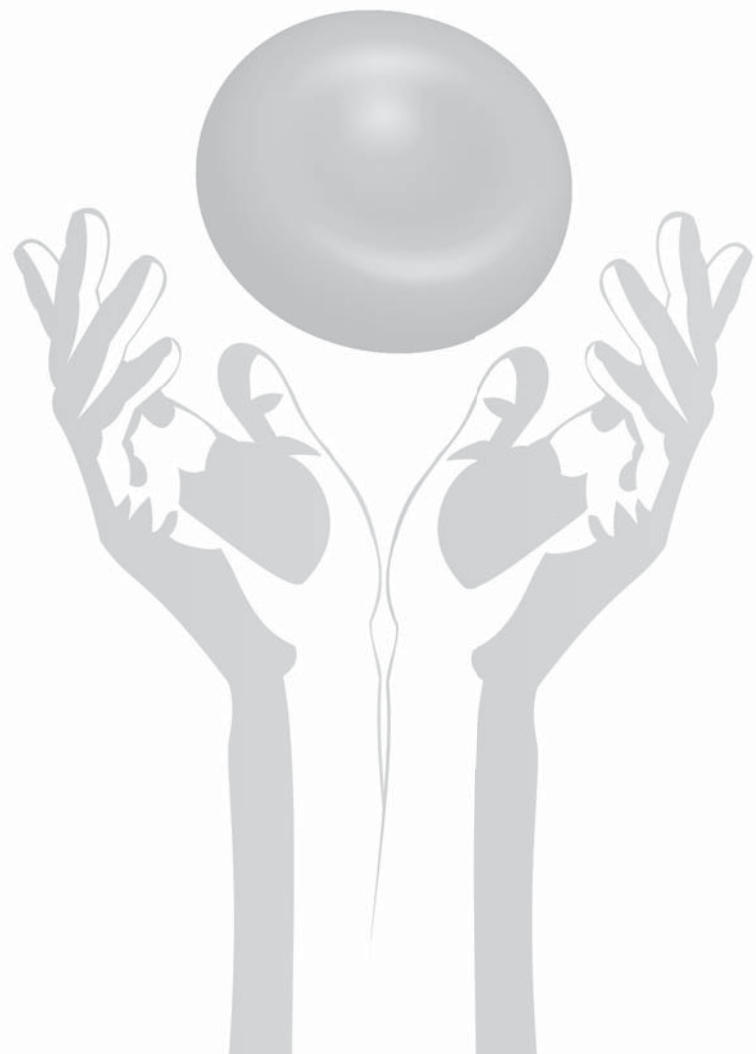
## CHAPTER 8

behandeling meegenomen wordt in de afweging om een MDS patiënt meer volledig gematcht bloed te verstrekken. In zijn algemeenheid zou gesteld kunnen worden dat voor de incidenteel getransfundeerde MDS patiënt geen specifieke vereisten gelden, maar dat de intensief getransfundeerde MDS patiënt op basis van een verhoogd *cumulatief* alloimmunisatie risico volledig Rh, K compatibel bloed ontvangt *tenzij* hij op dat moment behandeld wordt met sterk immunosuppressieve middelen.

Bovenstaande R-FACT studies zijn geïnitieerd met als doel om een accuraat alloimmunisatie predictiemodel op te stellen waarmee voor elke patiënt met een uniek klinisch fenotype een welafgewogen beslissing omtrent rode bloedcel antigeen matching genomen kan worden. Voor deze geïndividualiseerde aanpak is het van groot belang dat het proces van alloimmunisatie begrepen wordt. In dit proefschrift hebben wij enkele klinische determinanten van rode bloedcel alloimmunisatie geïdentificeerd die als basis kunnen dienen voor een dergelijk predictiemodel. Toekomstige studies zullen gericht moeten zijn op het blootleggen van andere factoren van invloed. Na kritische evaluatie van financiële kosten en praktische uitvoerbaarheid zowel aan de donorzijde van de keten als bij het lokale transfusielaboratorium, zullen factoren op het gebied van genetische constitutie, opvoeding en omgeving, donor gerelateerde zaken, en klinische condities hopelijk uiteindelijk geïntegreerd kunnen worden in één goed functionerend risicomodel. Hiermee zal naar verwachting alloimmunisatie en haar soms desastreuze klinische gevolgen verder teruggedrongen kunnen worden.



NEDERLANDSE SAMENVATTING



# 9

CURRICULUM VITAE

LIST OF PUBLICATIONS

DANKWOORD

LIST OF ABBREVIATIONS

