

Acute hemolytische transfusiereactie e.c.i.

Dr. Irene Körver-Keularts

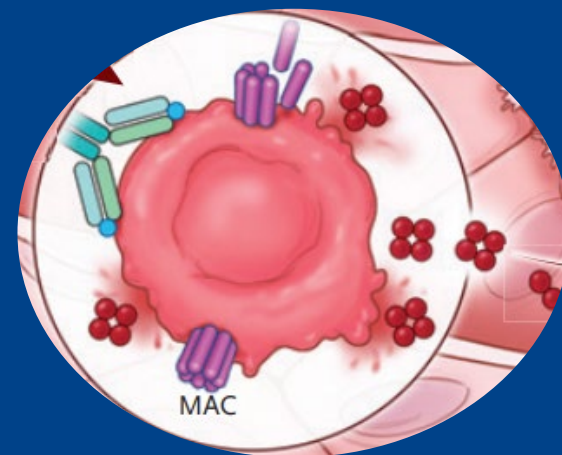
Klinisch chemicus

Transfusielaboratorium

Centraal Diagnostisch Laboratorium, MUMC+

Maastricht

Maastricht, 25 november 2021



**Disclosure belangen spreker
onderwijsbijeenkomst Transfusiegeneeskunde ZO van 25 november 2021**

Naam: Irene Körver-Keularts

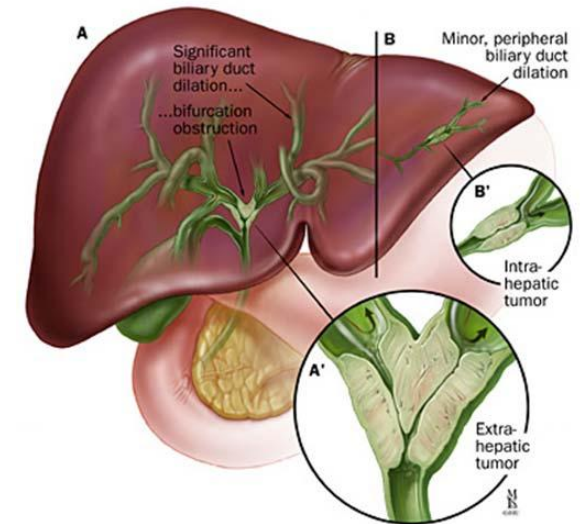
Geen (potentiële) belangenverstrengeling

- **Voor bijeenkomst mogelijk relevante relaties**
- **Sponsoring of onderzoeksgeld**
- **Honorarium of andere (financiële) vergoeding**
- **Aandeelhouder**
- **Andere relatie, namelijk ...**

Geen

Casusbeschrijving

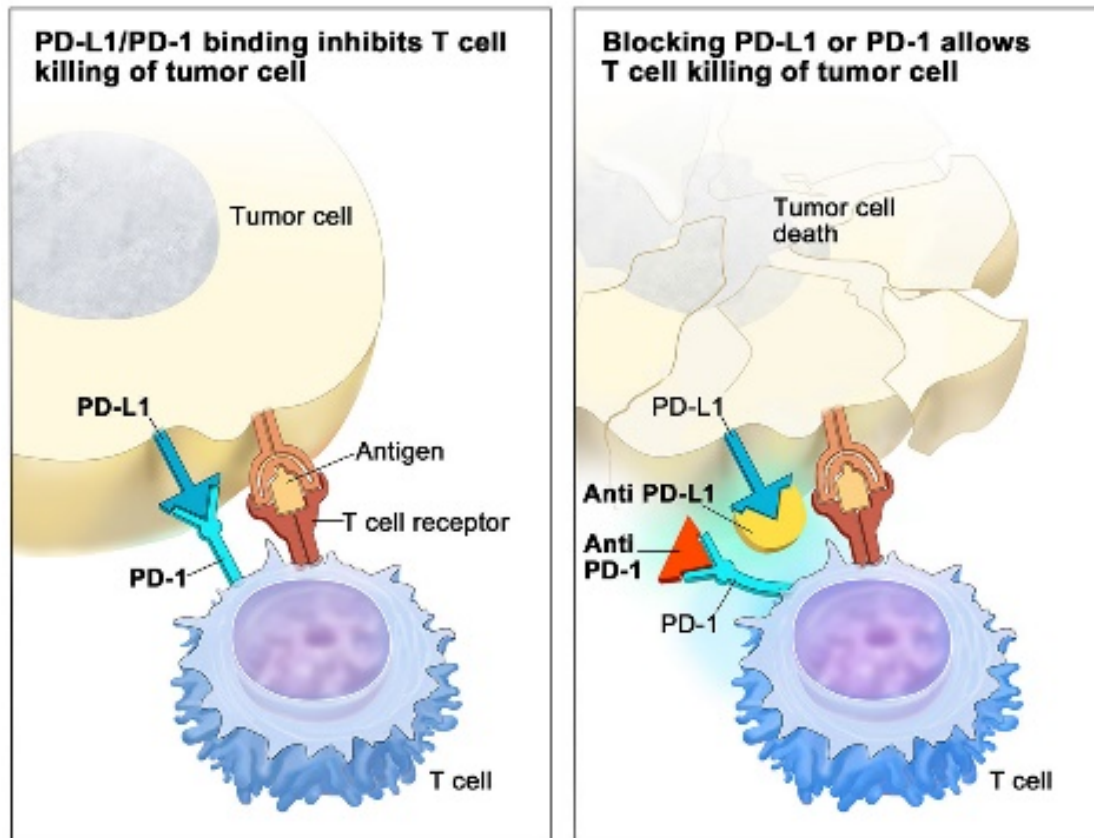
- Vrouw, 29-6-1960
- Mei 2021/ Hepatogeen en mogelijk peritoneaal gemetastaseerd intrahepatisch **cholangiocarcinoom**, w.v. palliatief beleid
- Behandeling vanaf juni 2021
 - Fase 3 gerandomiseerd dubbel blind studie: *pembrolizumab + gemcitabine/cisplatin vs. placebo + gemcitabine/cisplatin*
 - Best supportive care



Pembrolizumab, 200 mg, every 3 weeks (Q3W), Day 1 of each 3-week cycle for up to 35 cycles PLUS **Gemcitabine**, 1000 mg/m², Q3W, Day 1 and Day 8 of each cycle until progressive disease or unacceptable toxicity PLUS **Cisplatin**, 25 mg/m², Q3W, Day 1 and Day 8 of each cycle for up to 8 cycles.

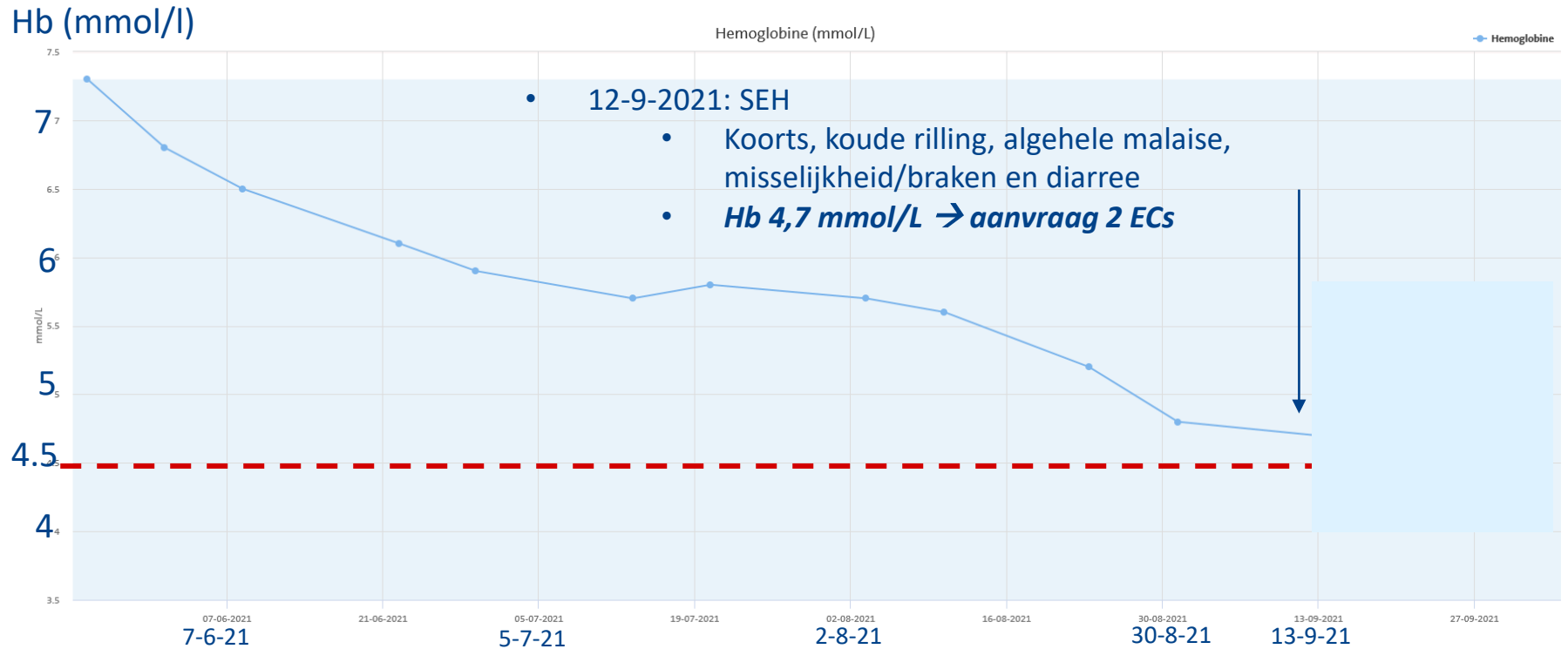
Pembrolizumab, checkpoint inhibitor

An anti-programmed cell death (PD)-1 monoclonal antibody



© 2016 Terese Winslow LLC
U.S. Govt. has certain rights

Hb beloop sinds start behandeling



- *Op dat moment kuur 5*

Serologische data d.d. zo. 12-09-2021 (EHBO)

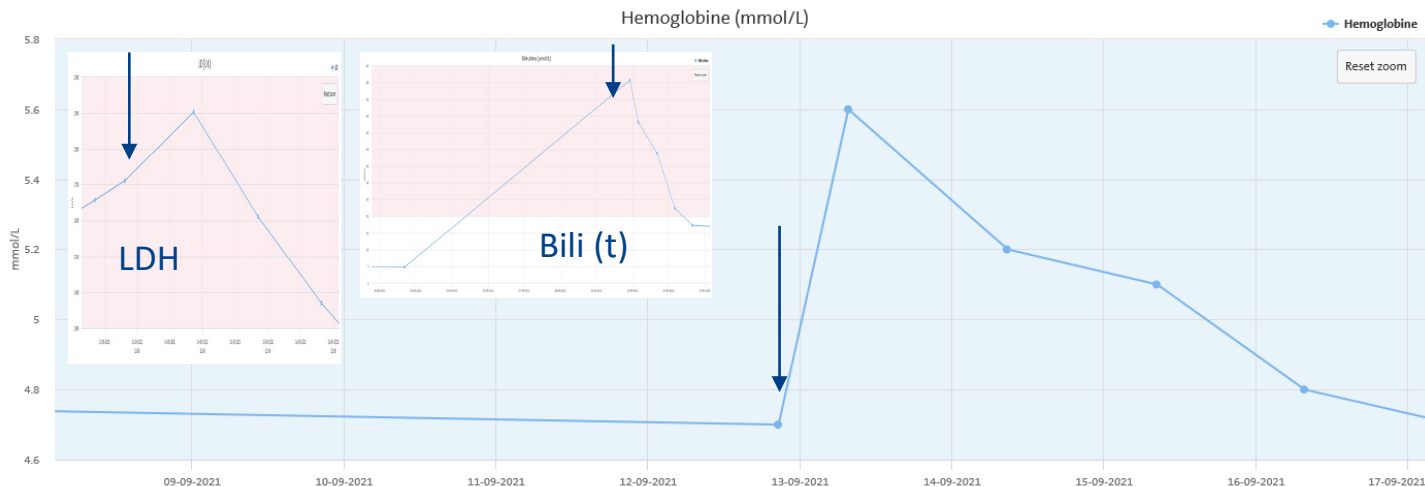
- Bg/RhD: O pos
- Irregulaire antistoffen: negatief
- *ERGO: uitgifte via type & screen (T&S)*

Overzicht transfusies					
Einheid	Product	Bloedgroep	Fenotype	Kruisproef	Transfusiedatum
N000321295379/E8981V00	Erytrocyten, LD, bestraald	OPOS	ccee, Kell neg	Kruisresultaat goed	02-10-2021 17:54
N001121314001/E8981V00	Erytrocyten, LD, bestraald	OPOS	ccEe, Kell neg	Kruisresultaat goed	01-10-2021 12:54
N000321288140/E8980V00	Erytrocyten, LD	OPOS	ccEE, Kell neg	Type&screen eenheid	17-09-2021 15:02
N000321285599/E8980V00	Erytrocyten, LD	OPOS	CcEe, Kell neg	Type&screen eenheid	17-09-2021 13:49
N001121311807/E8980V00	Erytrocyten, LD	OPOS	niet getest	Type&screen eenheid	13-09-2021 02:09
N000321293668/E8980V00	Erytrocyten, LD	OPOS	ccee, Kell pos	Type&screen eenheid	13-09-2021 00:00
N001121277858/E8980V00	Erytrocyten, LD	OPOS	ccee, Kell neg	Type&screen eenheid	27-08-2021 14:12
N000321314778/E8980V00	Erytrocyten, LD	OPOS	Ccee, Kell neg	Type&screen eenheid	31-08-2021 13:14

Twee transfusies op 13-09 in de nacht gegeven.

Tx datum	ECs uittypering	Tx reactie	IRA	Xprf
12-09-2021	Opos, ccee, Kell pos Opos, niet getest		neg	n.v.t. (T&S)

(Tijdelijke) Hb stijging na 1^e transfusies



Klinisch beloop: lijkt aanvankelijk goed beloop (patiënt knapt op na transfusie) echter toch temp stijging (36.9°C → 38.9°C en bruine urine op 14-09 bij goede nierfunctie; ook AB gebruik), het Hb daalt weer snel met doorstijgend LDH en onderdrukt haptoglobine. **Terugkijkend: hemolyse?**

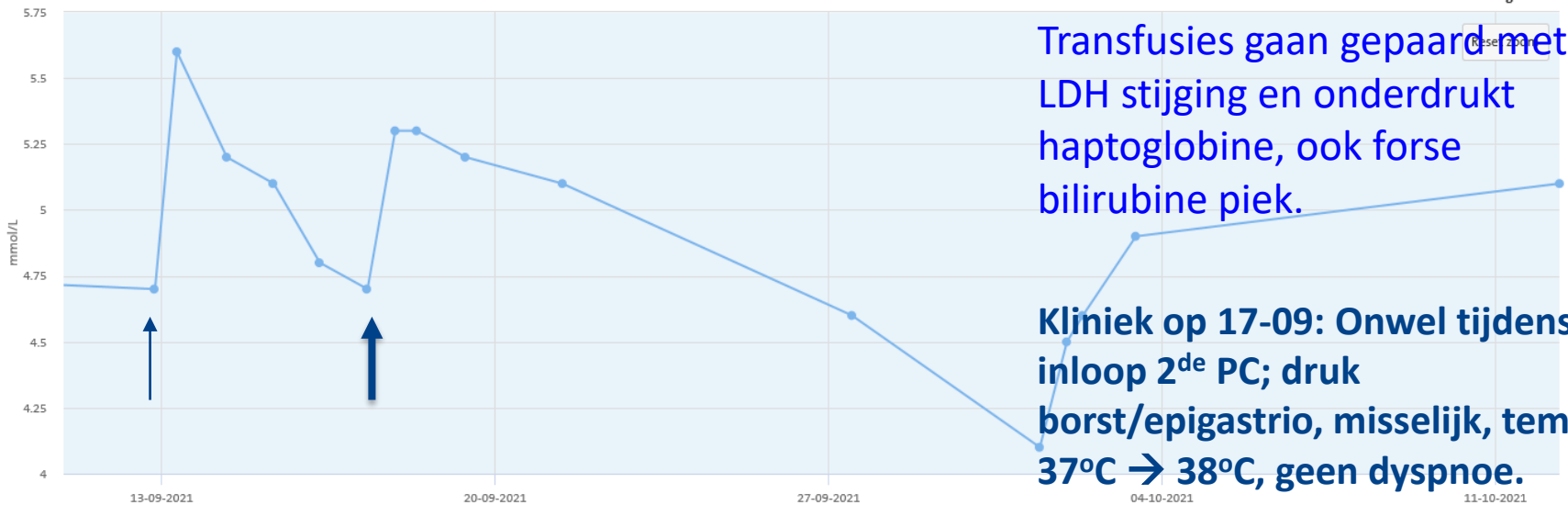
WD immuuntherapie gemedieerde hemolyse dd beenmergtoxiciteit bij chemotherapie of toch para-infectieus/viraal?

Op vrijdag 17-09

- Hb is weer gezakt naar 4.7 mM binnen 5 dagen
- Beleid o.a. 2 ECs
- Transfusie op 13:49 en 15:02 uur

Tx datum	ECs uittypering	Tx reactie	IRA	Xprf
12-09-2021	Opos, ccee, Kell pos Opos, niet getest	H??	neg	n.v.t. (T&S)
17-09-2021	Opos, CcEe, Kell neg Opos ccEE, Kell neg, Cw neg, M neg, Le(a)neg, Fy(b) neg		neg	n.v.t.

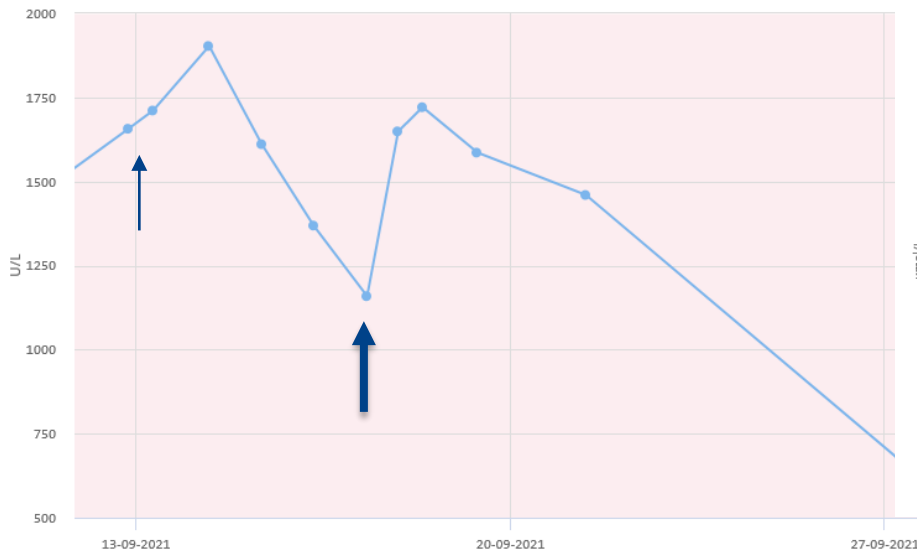
Hemoglobine (mmol/L)



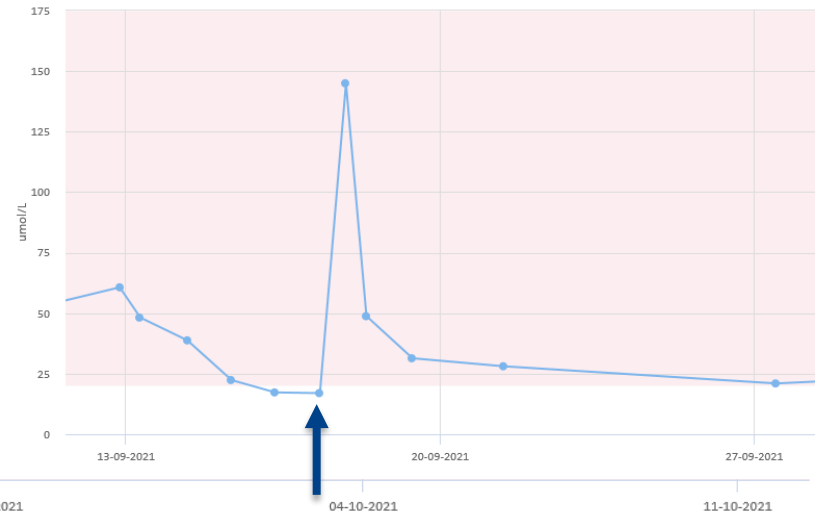
Transfusies gaan gepaard met LDH stijging en onderdrukt haptoglobine, ook forse bilirubine piek.

Kliniek op 17-09: Onwel tijdens inloop 2^{de} PC; druk borst/epigastrio, misselijk, temp 37°C → 38°C, geen dyspnoe.

LD (U/L)



Bilirubine (umol/L)



Ergo: transfusiereactie op vrijdag 17-09

- Hemolyse na 2 ECs

Tx datum	ECs uittypering	Tx reactie	IRA	Xprf
12-09-2021	Opos, ccee, Kell pos Opos, niet getest	H??	neg	n.v.t. (T&S)
17-09-2021	Opos, CcEe, Kell neg Opos ccEE, Kell neg, Cw neg, M neg, Le(a)neg, Fy(b) neg	H+	neg	n.v.t.























- Oorzaak ook met oog op vervolgttransfusies?

Serologie rondom transfusie

16-09
7:37

17-09
7:38

17-09
21:39

^ Transfusie							
Bloedgroep/Rhesus	 	O pos			O pos		O pos
Irregulaire antistoffen	 	Negatief			Negatief		Negatief
Koude Antistoffen	 				Negatief		
Directe Antiglobulinetest	 	Negatief			POS(zw.. 		Negatief
IgG (DAT)	 	POS(zw.. 			Negatief		POS(zw.. 
C3d (DAT)	 	Negatief			POS(zw.. 		Negatief
IgA (DAT)	 	Negatief			Negatief		Negatief
IgM (DAT)	 	Negatief			Negatief		Negatief
Irregulaire As. Eluaat	 	Negatief					Negatief

Geen noemenswaardige veranderingen (behoudens subtiele veranderingen in DAT) voor en na transfusie maar wel degelijk hemolyse en kliniek.

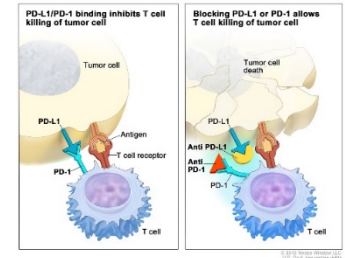
Oorzaak van (DC negatieve) hemolyse:

- **Microangiopathische hemolyse** bij normale trombo/ geen fragmentocyten → onwaarschijnlijk.
- **Paroxysmale Nocturnale Hemoglobinurie (PNH)** → clonale afwijking hematopoietische stamcel/PIGA defect, trombo-embolische events → kliniek niet passend
- **Medicament-geïnduceerde hemolyse:** rol van checkpoint inhibitor?
- **Rol van HLA antistoffen** bij hemolyse zonder serologie?

Oorzaak van (DC negatieve) hemolyse:

- **Microangiopathische hemolyse** bij normale trombo/ geen fragmentocyten → onwaarschijnlijk.
- **Paroxysmale Nocturnale Hemoglobinurie (PNH)** → clonale afwijking hematopoietische stamcel/PIGA defect, trombo-embolische events → kliniek niet passend
- **Medicament-geïnduceerde hemolyse: rol van checkpoint inhibitor?**
- **Rol van HLA antistoffen** bij hemolyse zonder serologie?

Medicatie: pembrolizumab



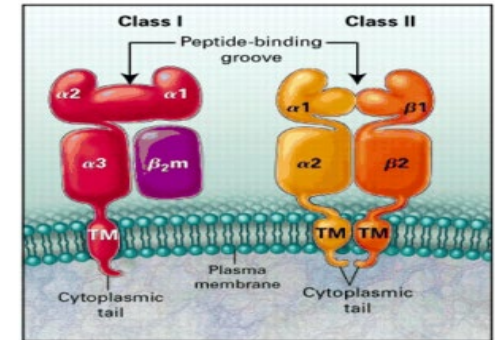
- Checkpoint inhibitors (pembrolizumab, nivolumab) worden geassocieerd met immunogelateerde bijwerkingen waaronder auto-immuun gemedieerde neutropenie, trombocytopenie en zelfs pancytopenia.
- Ze worden ook met auto-immuun hemolytische anemie in relatie gebracht (Tanios et al. *Eur J Haematol.* 2019;102:157–162)
- Auto-immuun hemolytische anemie is zeldzaam, vooral na CPI toediening en vorming van auto-antilichamen (IgG, IgM) is betrokken
- Mogelijk treedt AIHA op als gevolg van dysbalans op tussen regulerende T-cellen en overactiviteit van B- en T-cellen
- Tijdsperiode – 2-78 weken met median van 10 weken.
 - In 9/12 cases werd IgG op RBC gevonden passend bij warme AIHA.
 - In 3/12 cases werd complement gevonden op RBCs.
- ***We vinden noch IgG noch C3d/complement op RBCs van patiënte.***

Oorzaak van (DC negatieve) hemolyse:

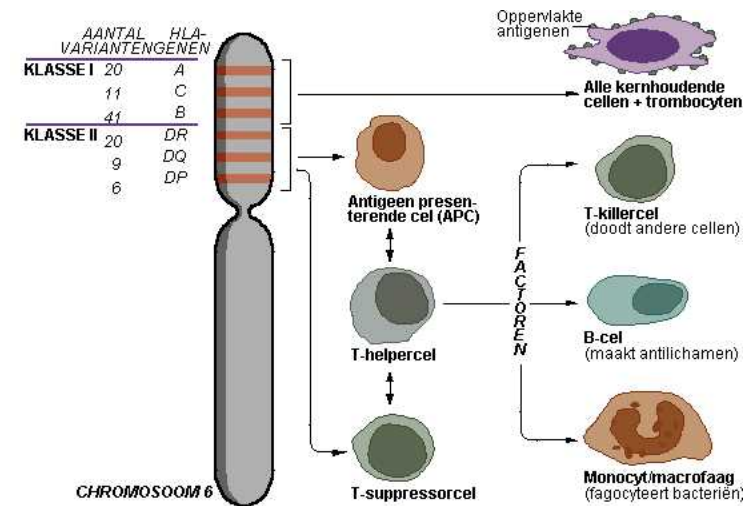
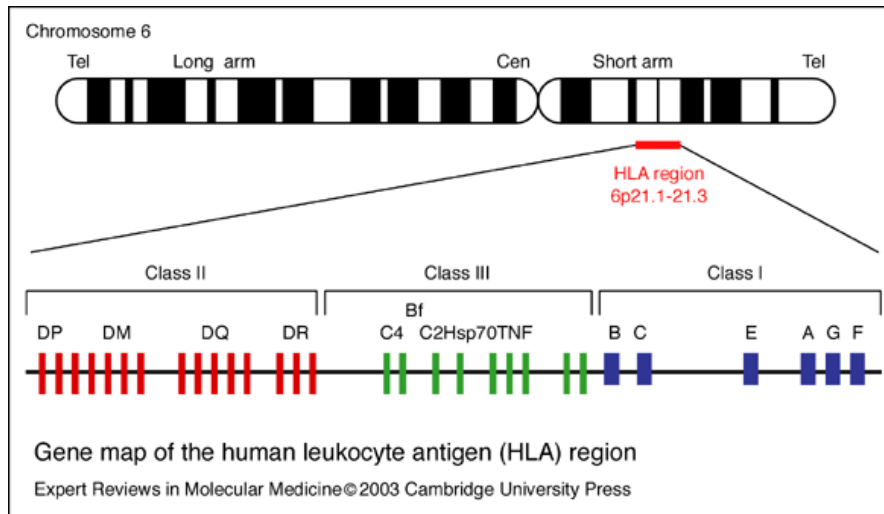
- **Microangiopathische hemolyse** bij normale trombo/ geen fragmentocyten → onwaarschijnlijk.
- **Paroxysmale Nocturnale Hemoglobinurie (PNH)** → clonale afwijking hematopoietische stamcel/PIGA defect, trombo-embolische events → kliniek niet passend
- **Medicament-geïnduceerde hemolyse:** rol van checkpoint inhibitor?
- **Rol van HLA antistoffen bij hemolyse zonder serologie?**

Het HLA systeem

- HLA klasse-I (A,B,C) moleculen
op alle kernhoudende cellen en trombocyten.
- HLA klasse II (DP, DQ, DR) moleculen
alleen op antigeen-presenterende cellen (APC).



Klein J, Sato A.
NEJM 2000;343:702-9.



HLA antigenen op erythrocyten

RBC antigen	HLA	freq.	cross reacting	freq.
Bg ^a	B7	18%	B27	3%
Bg ^b	B57(17) B58(17)	4%		
Bg ^c	A68(28) A69(28)	3%	A2	30%

Bg; Bennett Goodspeed antibodies

Bepaling van HLA-typering/antistoffen bij patiënt

HLA-typering		
HLA-A	A*01	A*31
HLA-B	B*08	B*51
HLA-C	C*07	C*15

Aanwezigheid HLA antistoffen:

	Antistoffen boven de positiviteitsgrens ^a	Antistoffen tussen gedefinieerde drempelwaarden ^b
Klasse I	Positief	Positief
Klasse II		

HLA specificiteiten:

	Antistoffen boven de positiviteitsgrens ^a
Klasse I	A23, A24, B13, B27, B47, B48, B50, B60, B61, B62, B7, B72, B81
Klasse II	

	Antistoffen tussen gedefinieerde drempelwaarden ^b
Klasse I	A2, A69, B49, B73, Cw10, Cw9
Klasse II	

- Techniek: luminex single antigens, geen functionele assay
- Functionele test inzetten (complement-dependent cytotoxicity test)

Relevantie van antistoffen voor erythrocyten?

- Patiënt heeft B7 boven positiviteitsgrens
- A2 en A69 tussen gedefinieerde drempelwaarden.

Theoretisch

RBC antigen	HLA	freq.	cross reacting	freq.
Bg ^a	B7	18%	B27	3%
Bg ^b	B57(17) B58(17)	4%		
Bg ^c	A68(28) A69(28)	3%	A2	30%

Acute and delayed hemolytic transfusion reactions secondary to HLA alloimmunization

Kaaron Benson, Steven J. Agosti, Gerardo E. Latoni-Benedetti, and German F. Leparo

TRANSFUSION 2003;43:753-757.

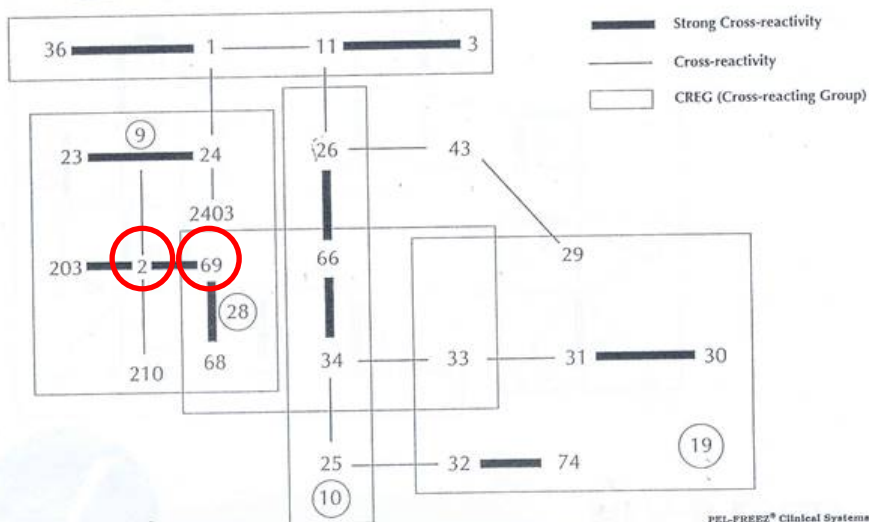
Delayed and acute hemolytic transfusion reactions resulting from red cell antibodies and red cell-reactive HLA antibodies

Chikako Takeuchi, Hitoshi Ohto, Saori Miura, Hiroyasu Yasuda, Satoshi Ono, and Takashi Ogata

TRANSFUSION 2005;45:1925-1929.



Cross-Reactivity HLA-A Locus



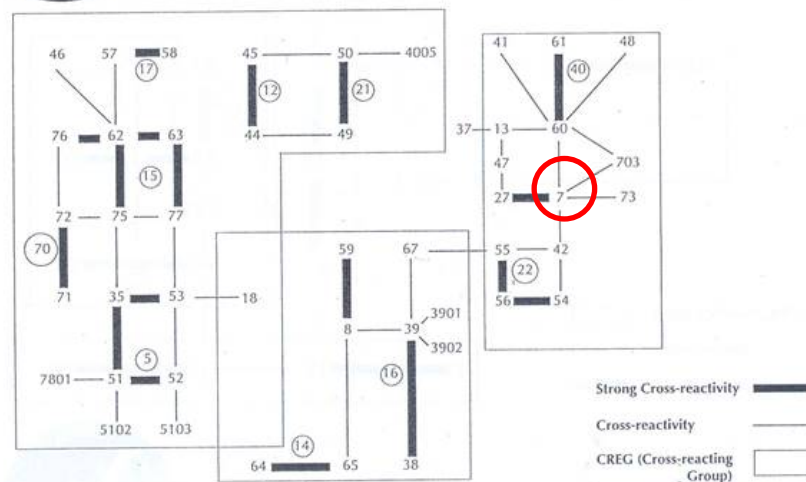
Prepared for PEL-FREEZ® Clinical Systems
by Ieke Schreuder, Ph.D., - Leiden, The Netherlands
Kris Alyer - Pel-Freez®

Telephone: (414) 357-4500
© Copyright 1992 Pel-Freez®

PEL-FREEZ® Clinical Systems
9099 N. Deerebrook Tr.
Brown Deer, WI 53223 USA



Cross Reactivity HLA-B Locus



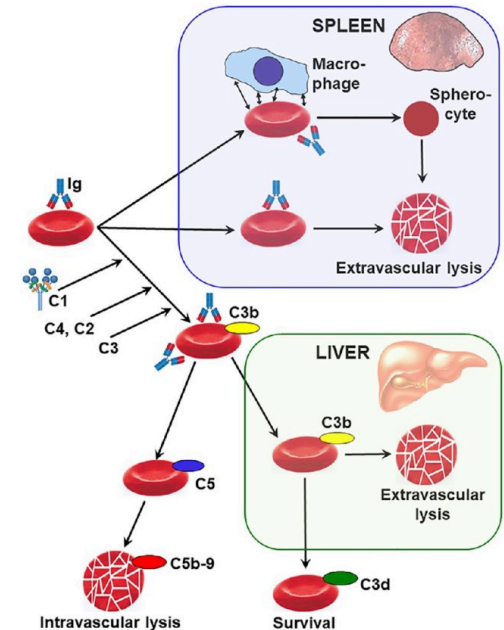
Prepared for PEL-FREEZ® Clinical Systems
by Ieke Schreuder, Ph.D., - Leiden, The Netherlands
Kris Alyer - Pel-Freez®

Telephone: (414) 357-4500
© Copyright 1992 Pel-Freez®

PEL-FREEZ® Clinical Systems
9099 N. Deerebrook Tr.
Brown Deer, WI 53223 USA

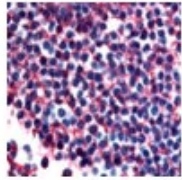
HLA antigenen/antilichamen in relatie tot hemolyse

- HLA antigenen zijn aanwezig op onrijpe RBC en verdwijnen (grotendeels) als RBC rijpen.
- HLA aantoonbaar met gevoelige methoden als flowcytometrie - in 50% van individuen HLA klasse I aangetoond worden op RBCs.
- Hoewel HLA antilichamen normaliter benigne zijn, kunnen ze in vivo zijn wel hemolytische transfusies beschreven.
- Hemolyse treedt op door complementactivatie (sterker bij verse ECs < 5 dagen dan oudere ECs), afbraak in twee fasen en fase 1 als binnen 100 uur.
- Potente HLA antilichamen tegen HLA-A2 en A2 CREG **cross-reactive groups (CREGs*)** worden als potente bron van hemolyse genoemd maar ook HLA-B7 wordt genoemd.

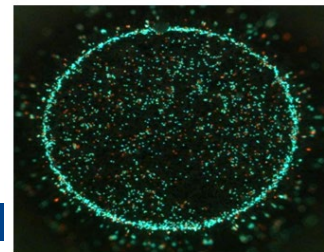
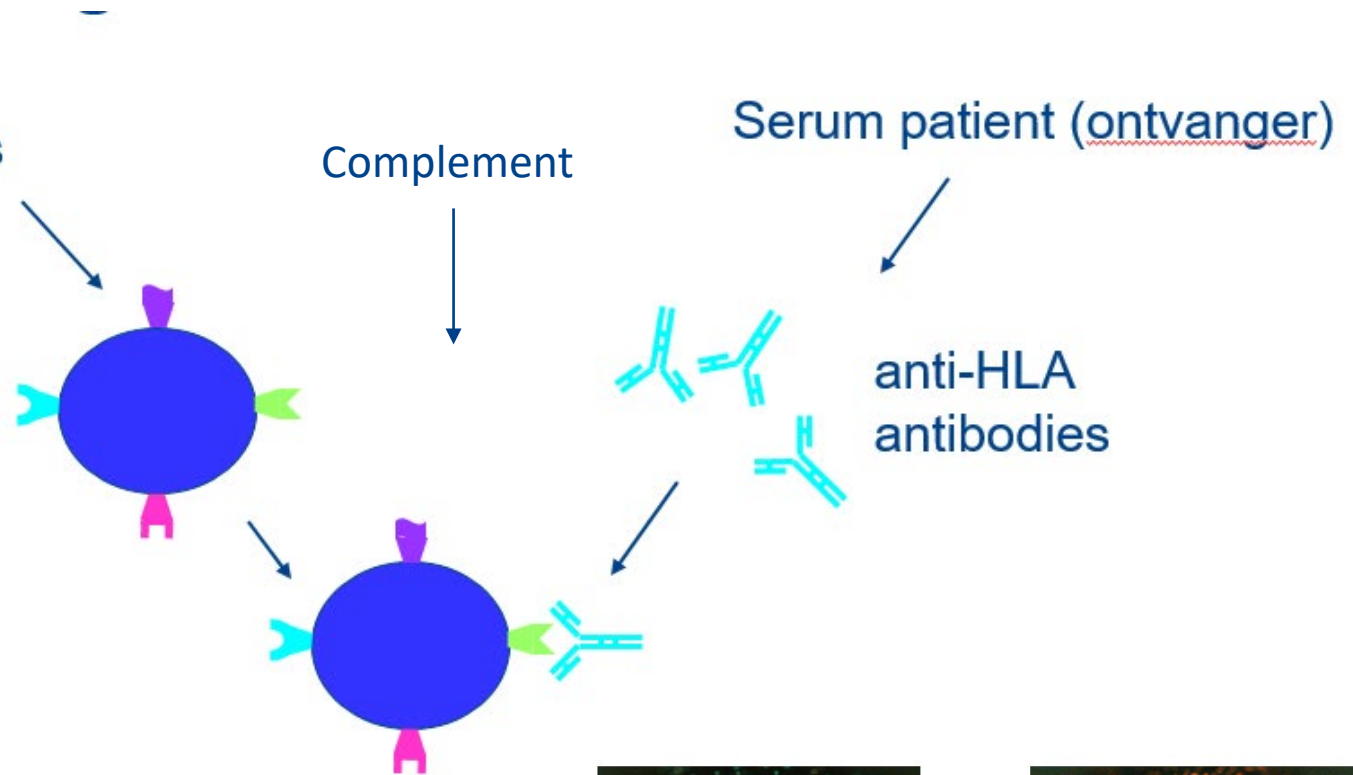


* Het acronym HLA CREG (cross-reactive group) beschrijft dat monospecifieke HLA antisera reageren met 2 or more HLA antigens. Deze serologische cross-reactivity wordt toegeschreven aan determinants (public epitopes) die gedeeld worden binnen HLA klasse I gen producten.

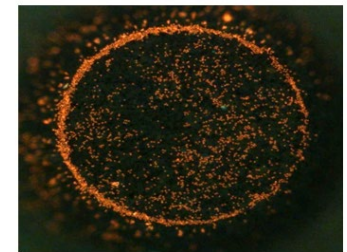
Complement-dependent cytotoxicity (CDC) test



Getypeerde lymphocytes



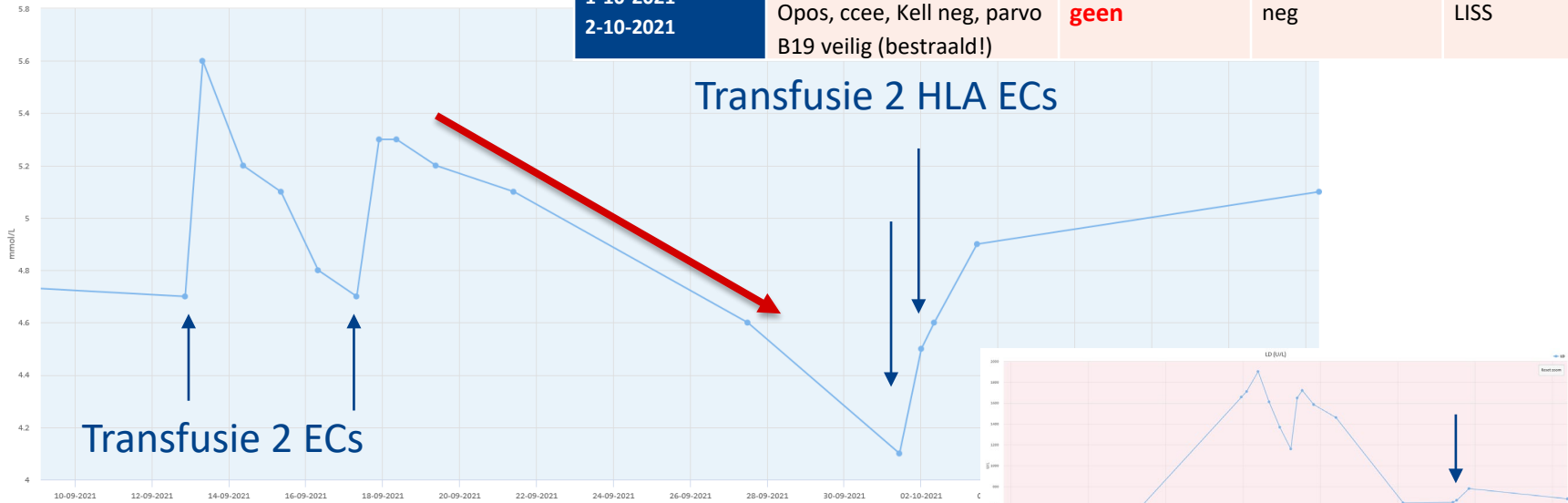
negatieve reactie



positieve reactie

Hb daalt weer....

Tx datum	ECs uittypering	Tx reactie	IRA	Xprf
1-10-2021	Opos, ccEe, Kell neg			
2-10-2021	Opos, ccee, Kell neg, parvo B19 veilig (bestraald!)	geen	neg	LISS



- In overleg met UTG Sanquin HLA-identieke erythrocyten
- HLA-ECs: geen transfusiereactie; nauwelijks LDH stijging, marginale bilirubine stijging
- Patiënt voelt zich prima tijdens en na transfusie
- In afwachting van CDC test.....

Uitslag CDC

Het serum van de patient d.d. 27.09.2021 werd getest op aanwezigheid van complement afhankelijke antistoffen tegen HLA-A2, A69 en B7 middels CDC kruisproeven met lymfocyten met deze HLA antigenen.

Alle CDC kruisproeven waren negatief.

Getest werden:

2 cellen met HLA-A2

2 cellen met HLA-A69

2 cellen met HLA-B7

2 cellen met HLA-A2 en B7

Geen aanwijzing voor complement gemedieerde hemolyse door HLA-antistoffen.

Summary

- Patiënt had acute hemolytische transfusiëreactie op tweede transfusie met “random” ECs zonder serologische clues.
- Vele HLA-Ab bleken aanwezig (effect pembrolizumab??) die kunnen reageren met ECs en beschreven zijn hemolyse te kunnen geven.
- Patiënt heeft geen transfusiëreactie ondervonden bij de HLA-gematchte ECs; nauwelijks hemolyse en transfusie werd goed verdragen.
- Gezien de beperkte levensverwachting (6 mnd-2 jaar) en de goede reactie op HLA-EC toch bij vervolgttransfusie HLA-EC
- 20-10-2021: BSC via huisarts, geen systemische therapie meer. Patiënt wil nu ook geen transfusies meer.....

Take home messages

- Denk bij hemolyse en negatieve serologie (DAT/kruisproeven) ook aan HLA antistoffen.
- Bestelling van HLA-getypeerde ECs is mogelijk (met dank aan Sanquin!)

Betrokken bij de casus:

- Prof. dr. Erik Beckers (hematoloog & transfusiespecialist)
- Dr. Judith de Vos (oncoloog, hoofdbehandelaar)
- Dr. Joyce van Beers (klinisch chemicus/medisch immunoloog)
- Dr. Christine Voorter (medisch immunoloog)
- Dr. Jacques Wollersheim en collegae UTG alsmede Sanquin
- Collegae van het transfusielab Maastricht UMC+