

Trombocyten refractairiteit: huidige uitdagingen en de weg naar mogelijke oplossingen

Rick Kapur, MD, PhD, MSc

Sanquin, Amsterdam

Consortium Transfusiegeneskundig Onderzoek Voorjaarssymposium,
8 april 2022



Trombocyten refractairiteit (TR)

Trombocyten transfusies (vanaf 1970 klinisch gangbaar):

- alloimmunisatie trombocyten antigenen (m.n. HLA)
- onvoldoende opbrengst na trombocyten transfusies
- trombocyten refractairiteit (TR)

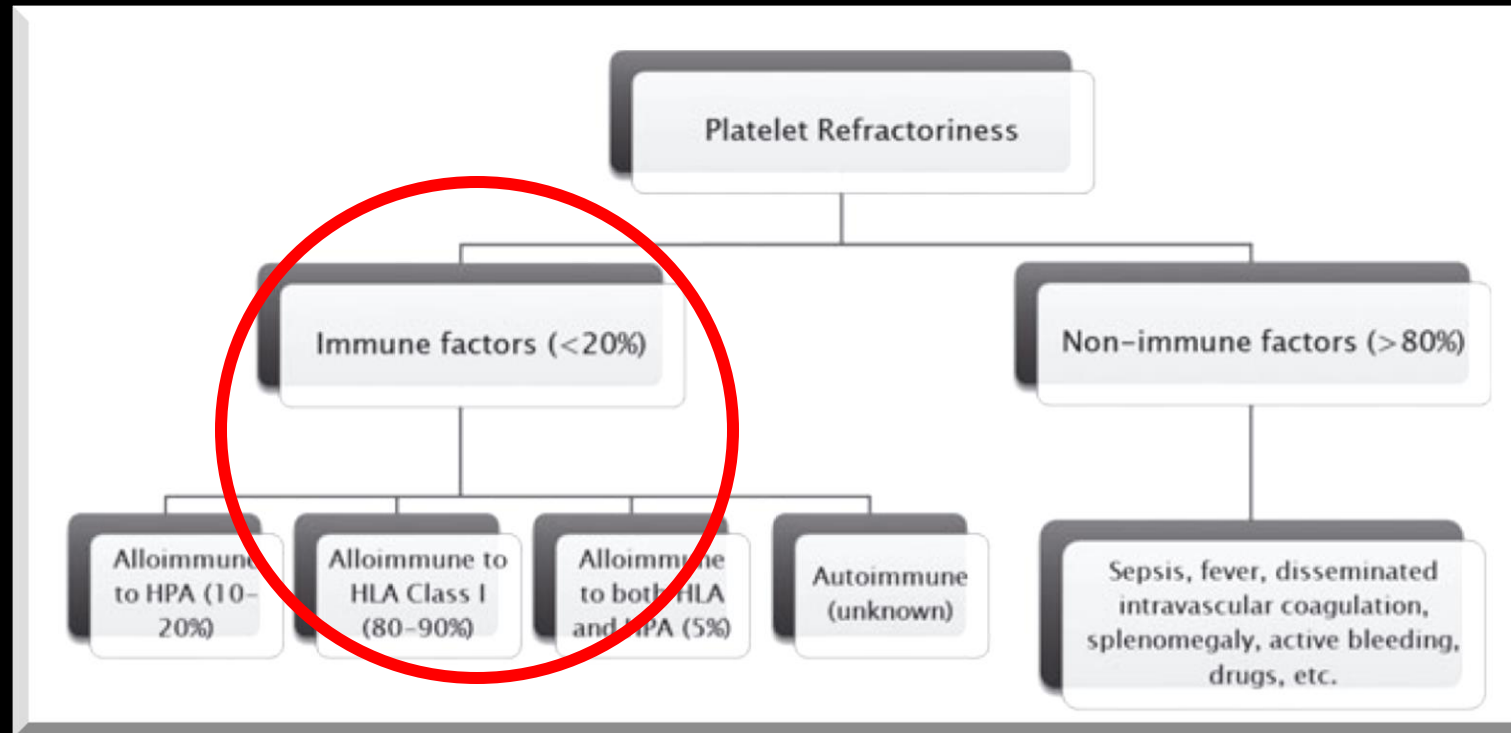
Corrected count increment (CCI): (post minus pre trombocytengetal (in $10^9/L$))
x (lichaamsoppervlak in m^2 / aantal toegediende trombocyten (in 10^{11}))

TR: CCI 1 uur na transfusie van kwalitatief goede ABO compatibele trombocyten
2 maal achtereenvolgens $< 7,5$

Klinische en praktische problemen TR

- Belangrijk klinisch probleem geassocieerd met verhoogde bloedingsrisico en verminderde overleving
- Aanpak: selectie van HLA-identieke trombocyten donors voor transfusie die negatief zijn voor HLA antigenen van gedetecteerde pathogene HLA antistoffen, of van trombocyten voor transfusie die crossmatch-negatief zijn
 - vereist grote HLA-getypeerde donor pool
 - geen volledige matchings-garantie bij brede immunisatie, zeldzame haplotypes
 - tijdrovend
 - kostenverhogend

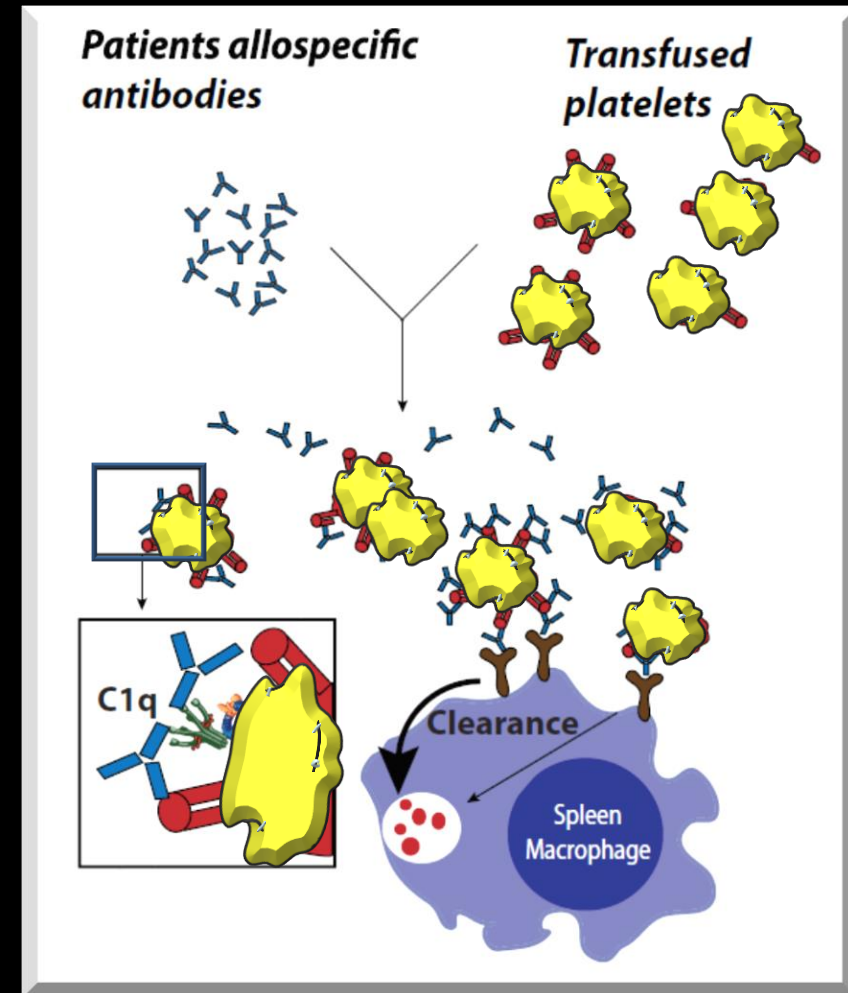
Etiologie TR



Veronderstelde pathofysiologische mechanismen immuun TR

Anti-HLA (HPA)-geïnduceerde:

- **FcγR-mediated platelet phagocytose door milt Mφ**
 - anti-HLA van patiënten met TR konden FcγRII-afhankelijke trombocyten activatie induceren → verhoogde phagocytose (Rijkers et al, *Haematologica* 2018)
 - genetische variatie FcγRs geen invloed op ontwikkeling TR (Nagelkerke et al, *J Thromb Haemost* 2020)
- **Complement activatie op platelets**
 - anti-HLA kan klassieke complement cascade op trombocyten activeren (Rijkers et al, *Haematologica* 2019)
 - Effect van complement remming (eculizumab) in 4/10 patiënten met TR (Vo et al, *Br J Haematol* 2020)



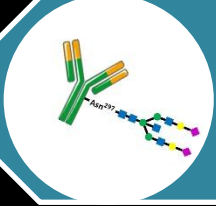
Saris et al, *Transfus Med Rev* 2020
(gemodificeerd)

Belang van HLA-antistoffen in TR

Alleen 30% van patienten met HLA-antistoffen ontwikkelt TR,
en 70% van de patienten met HLA-antistoffen dus niet!



Huidige focus en suggesties voor komend onderzoek TR



Anti-HLA Fc glycosylering en complement activatie

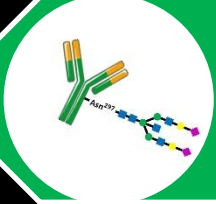


In vivo rol Fc glycosylering, FcγRs en complement



Rol van CD8+ T cellen

Huidige focus en suggesties voor komend onderzoek TR



Anti-HLA Fc glycosylering en complement activatie

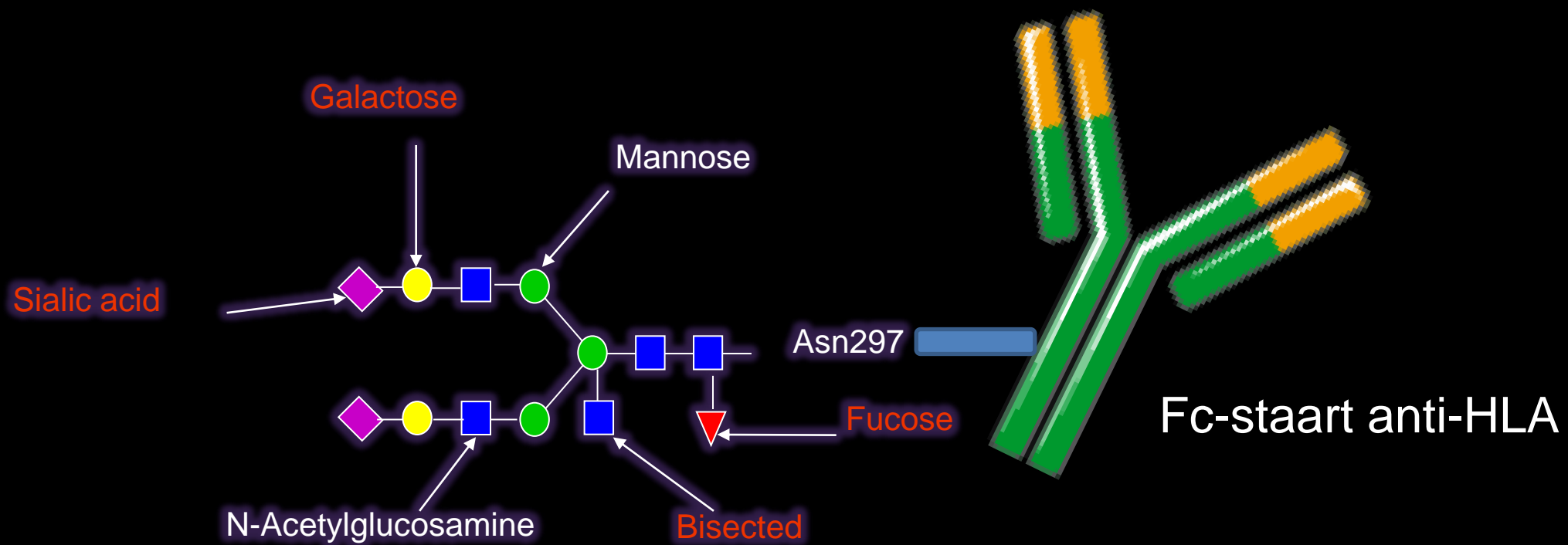


In vivo rol Fc glycosylering, FcγRs en complement

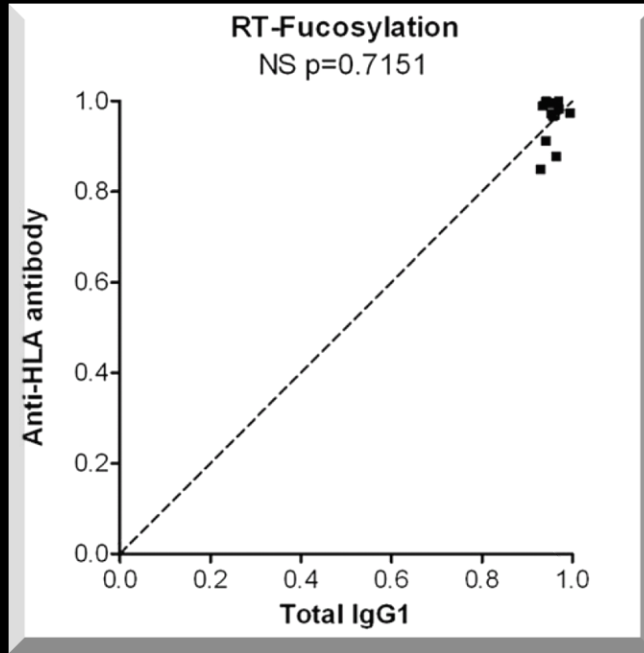


Rol van CD8+ T cellen

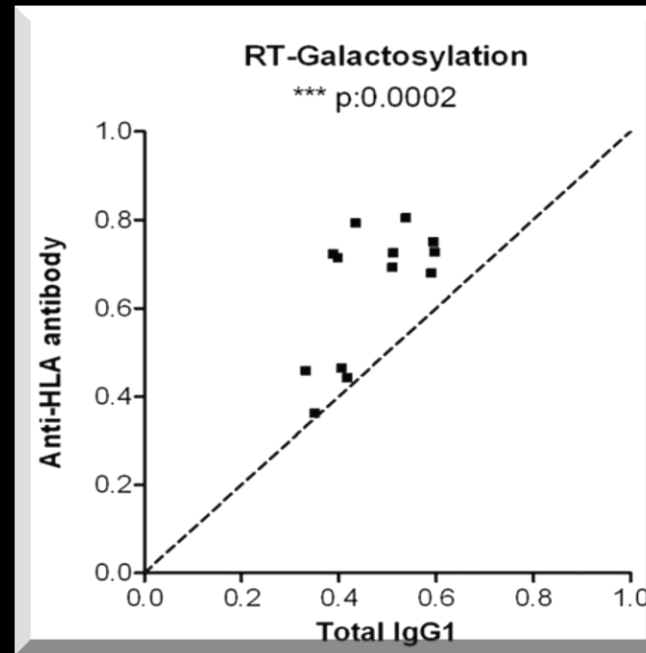
Anti-HLA Fc-glycosylering



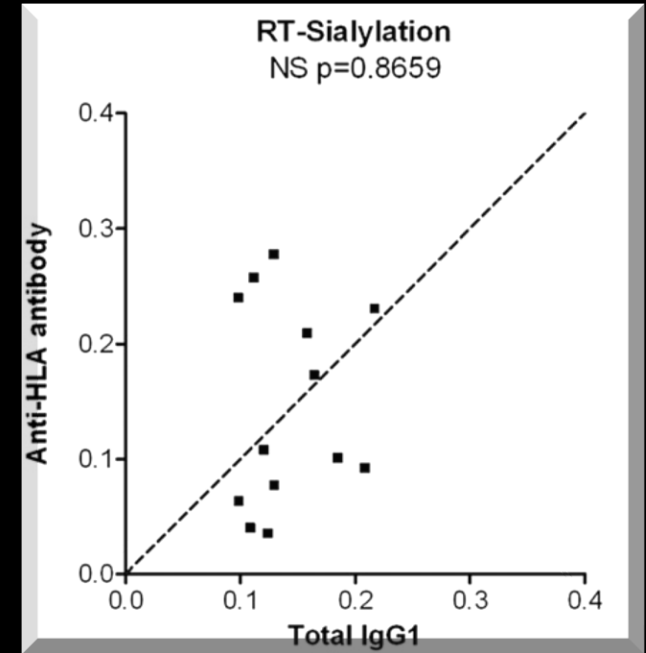
Anti-HLA Fc-glycosylering van patienten met TR



Fucose: geen significant effect,
wel aantal verlaagd



Galactose:
significant verhoogd



Sialylatie: geen significant
effect, wel variabel

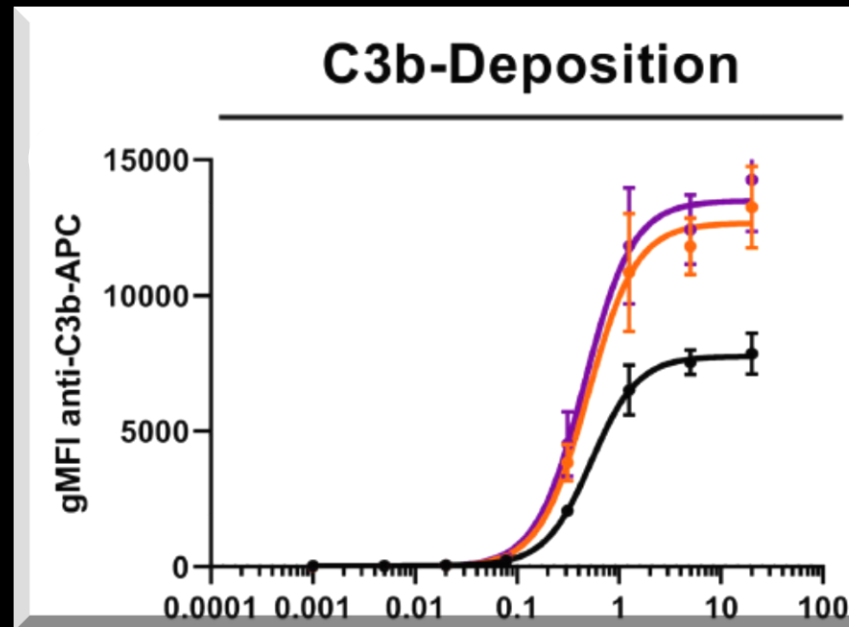
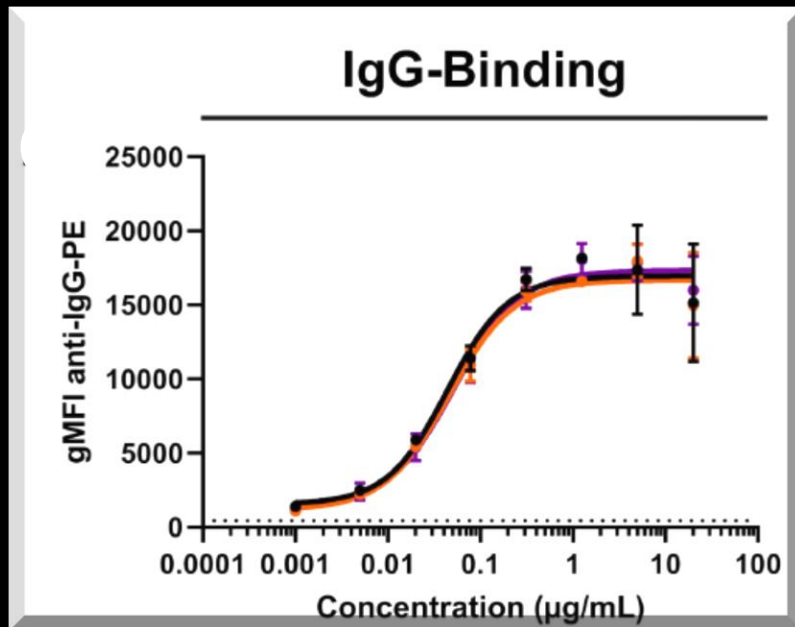
Lage Fc-fucose →
Verhoogde binding aan
phagocyte FcγRIIIa/b →
verhoogde platelet
phagocytosis →
thrombocytopenie

Hoge Fc-galactosylering (en sialylering) →

Verhoogde complement activatie?

Verhoogde anti-HLA Fc-galactosylering en sialylering activeert complement op trombocyten in vitro

Effect van recombinant glycoengineered HLA monoclonale antistoffen (Mabs) met variërende Fc galactosylering en sialylering op complement activatie op trombocyten

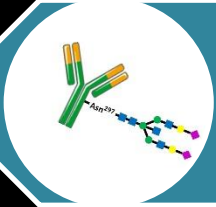


Anti-HLA Mabs combinatie

- SN230G6 U + W6/32 U
- SN230G6 Gal + W6/32 Gal
- SN230G6 Sial + W6/32 Sial

—●— Unmodified —●— High Gal. —●— High Sial.

Huidige focus en suggesties voor komend onderzoek TR



Anti-HLA Fc glycosylering en complement activatie



In vivo rol Fc glycosylering, FcγRs en complement

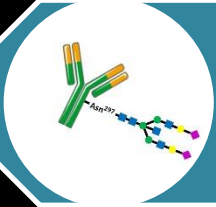


Rol van CD8+ T cellen

In vivo rol Fc glycosylering, FcγRs en complement

- Kan de anti-HLA Fc glycosylering een voorspellende waarde hebben voor TR?
 - associaties trombocyten transfusie opbrengst en TR met anti-HLA Fc glycosylerings profielen in klinische samples
- Beïnvloedt de anti-HLA Fc glycosylering de in vivo klaring van trombocyten?
 - effect van recombinante glycoengineered anti-HLA (ook mbt potentie tot antistof-hexamerisatie: van belang voor complement activatie) op trombocyten aantallen in vivo (muis)
- Wat is het belang van FcγRs en complement in een in vivo setting van TR?
 - effect van verschillende genetische FcγRs en complement knock-outs, en van pre-klinisch therapeutisch targeten van FcγRs en complement, in een vivo muis model van TR

Huidige focus en suggesties voor komend onderzoek TR



Anti-HLA Fc glycosylering en complement activatie



In vivo rol Fc glycosylering, FcγRs en complement



Rol van CD8+ T cellen

Rol van CD8+ T cellen in TR

TRANSFUSION MEDICINE

(Blood. 2016;127(14):1823-1827)

CD8⁺ T cells mediate antibody-independent platelet clearance in mice

Connie M. Arthur,¹ Seema R. Patel,¹ H. Cliff Sullivan,¹ Annie M. Winkler,¹ Chris A. Tormey,² Jeanne E. Hendrickson,² and Sean R. Stowell¹

¹Center for Transfusion Medicine and Cellular Therapies, Department of Laboratory Medicine and Pathology, Emory University School of Medicine, Atlanta, GA; and ²Department of Laboratory Medicine, Yale University School of Medicine, New Haven, CT

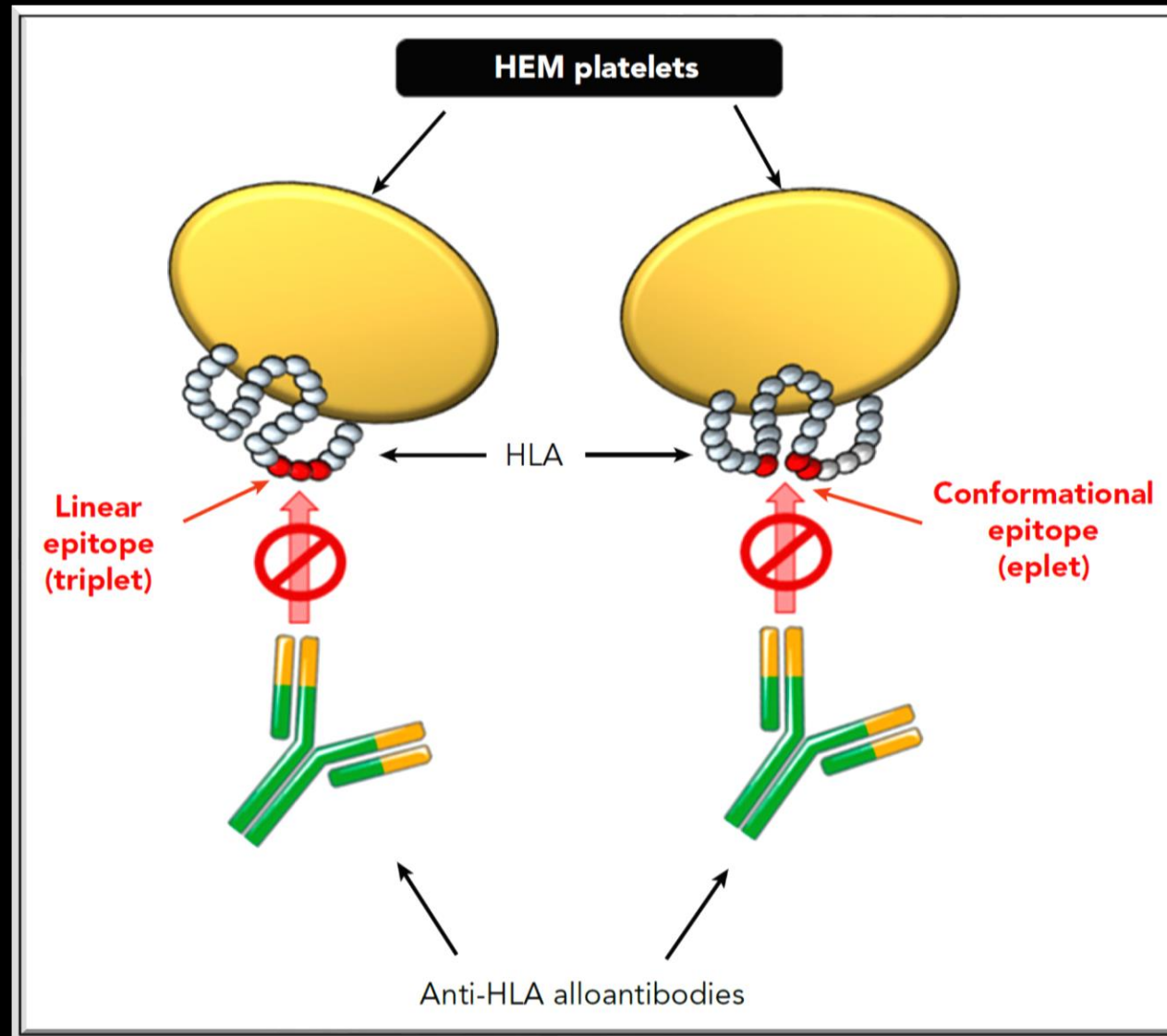
CD8+ T cellen veroorzaken TR onafhankelijk van alloantistoffen in een TR-muismodel

Is er al een bepaalde activatie van CD8+ T cellen in hemato-oncologische patienten voor aanvang van transfusies??

Conclusies

- TR is een belangrijk klinisch probleem met onduidelijke pathofysiologie
- Historisch ligt de focus op antistof-geïnduceerde trombocyten klaring, maar waarom veroorzaken sommige HLA-antistoffen TR en anderen niet?
- Belangrijk om beter de mechanismen te bestuderen inclusief de rol van T cellen
→ muismodellen in combinatie met klinische samples
- De toepasbaarheid van HLA epitope–matched (HEM) platelets in TR
(Marsh et al, *Blood* 2021)

HLA epitope-matched (HEM) platelets



Acknowledgements

Werkgroep trombocyten refractairiteit

Judith Somers

Wendy Swelsen

Jean-Louis Kerkhoffs

Věra Novotny

Masja de Haas

Leendert Porcelijn

Elise Huisman

Karin Fijnvandraat

Suzanne Gunnink

Dorothea Evers

Sanquin Research

Thijs van Osch

Gestur Vidarsson

Ellen van der Schoot

Mette Hazenberg



Kapur Groep

Saskia van der Velden

Romy Meier

Anne-Tess Jolink

Vivianne Nelson

Michelle Kempe

Dirk-Jan Mons