

Syllabus

PAOKC-cursus Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde

TRANSFUSIEGENEESKUNDE



Nederlandse Vereniging
voor Klinische Chemie
en Laboratoriumgeneeskunde

Dinsdag 3 maart 2009
Congrescentrum De Reehorst, Ede



Programma

9.15 – 10.00	Ontvangst en koffie
	OCHTENDPROGRAMMA <i>Voorzitter: V.M.J. Novotný</i>
10.00 – 10.05	Opening <i>V.M.J. Novotný</i>
10.05 – 10.35	Diagnostiek van trombocytopenie en transfusietriggers <i>J.J. Zwaginga</i>
10.35 – 11.05	Trombocyten refractairiteit, diagnostiek en transfusiebeleid <i>E.C.M. van Pampus</i>
11.05 – 11.20	Koffie/theepauze
11.20 – 11.50	ITP: diagnostiek, al of niet transfusie, nieuwe behandelopties <i>H.R.. Koene</i>
11.50 – 12.20	TTP: diagnostiek, behandeling, al of niet transfusie <i>R.E.G. Schutgens</i>
12.20 – 13.30	Lunch
	MIDDAGPROGRAMMA <i>Voorzitter: A. Leyte</i>
13.30 – 14.00	Laboratoriumdiagnostiek AIHA <i>M.A.M. Overbeeke</i>
14.00 – 14.30	Transfusie en behandeling bij AIHA <i>V.M.J. Novotný</i>
14.30 – 15.00	Koffie/theepauze
15.00 – 16.00	Casuïstiek AIHA/hyperhemolyse <i>I. Joosten</i> <i>W.B.C. Stevens</i>
16.00 – 16.30	Paneldiscussie
16.30	Afsluiting
16.30 – 17.30	Borrel

Sprekers

Dr. H.R. Koene

Internist-hematoloog

Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein

Dr. V.M.J. Novotný

Internist-hematoloog

Bloedtransfusiespecialist

UMC St Radboud, Nijmegen

Drs. M.A.M. Overbeeke

Bioloog

Sanquin Diagnostiek, Amsterdam

Dr. E.C.M. van Pampus

Internist-hematoloog

UMC St Radboud, Nijmegen

Dr. R.E.G. Schutgens

Internist-hematoloog

Universitair Medisch Centrum, Utrecht

Drs. W.B.C. Stevens

Internist-hematoloog i.o.

UMC St Radboud, Nijmegen

Dr. J.J. Zwaginga

Internist-hematoloog

Bloedtransfusiespecialist

Leids Universitair Medisch Centrum

St. Sanquin Bloevoorziening, Amsterdam

Organisatie

Mw. Dr. I. Joosten
UMC St Radboud, Nijmegen

Mw. Dr. V.M.J. Novotný
UMC St Radboud, Nijmegen

Mw. Dr. A. Leyte
Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam

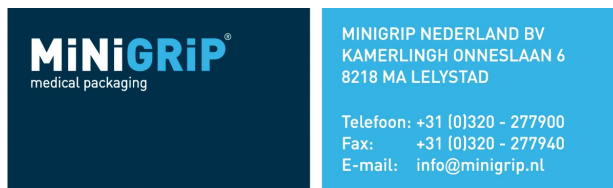
Dr. H.B. Brouwer
UMC St Radboud, Nijmegen

Drs. F.L.A. Willekens
Ziekenhuis Rijnstate, Nijmegen

	Pag.
Diagnostiek van trombopenie en transfusietriggers <i>J.J. Zwaginga</i>	6
Trombocyten refractairiteit, diagnostiek en transfusiebeleid <i>E.C.M. van Pampus</i>	8
ITP: diagnostiek, al of niet transfusie, nieuwe behandelopties <i>H.R. Koene</i>	14
Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) <i>R.E.G. Schutgens</i>	15
Auto-immuun-hemolytische anemie: klinische en laboratoriumaspecten <i>V.M.J. Novotný en M.A.M. Overbeeke</i>	17

Sponsors

Deze PAOKC-cursus Transfusiegeneskunde wordt mede mogelijk gemaakt door bijdragen van de onderstaande sponsors:



Ortho Clinical Diagnostics
a *Johnson & Johnson* company



DIAGNOSTIEK VAN THROMBOPENIE EN TRANSFUSIE TRIGGERS

J.J. Zwaginga, internist-hematoloog/bloedtransfusiespecialist

Thrombocytopenie is een frequent asymptomatische bevinding bij zowel congenitale als verworven aandoeningen. Behalve het vaststellen van dit onderscheid dient diagnostiek met name te bezien of de thrombocytopenie veroorzaakt wordt door een thrombocyten aanmaak stoornis dan wel door verhoogde afbraak of door verlies of verdunning. De laatste oorzaak van thrombopenie bij bijvoorbeeld trauma en massieve intravasculaire vulling is het makkelijkst vast te stellen en de therapie berust op aanvulling van de tekorten met transfusies.

Het meest bekende symptoom van thrombocytopenie zijn bloedingen van huid en de slijmvliezen. Zonder additionele factoren zoals gestoorde hemostase anderszins, concurrente slijmvlies (mucositis) of vasculaire laesies, is de kans op ernstige bloedingen zelfs bij zeer lage bloedplaatjes aantallen echter gering. Slechts $7 \times 10^9/l$ bloedplaatjes zijn per dag nodig om in dit soort stabiele patienten de vaatwand in goede conditie te houden en beperkte periodes van zelfs diepe thrombopenie ($5-10 \times 10^9/l$) behoeven geen profylactische bloedplaatjes transfusies. Anderzijds kan thrombopenie door microangiopathische afbraak (zoals TTP, HUS, DIS) gepaard gaan met thrombose. De vasculaire – hemostase activerende – laesie staat hier namelijk op de voorgrond. Therapie met bloedplaatjes transfusies in deze laatste afbraakaandoeningen kan dan “olie op het vuur” betekenen en dient slechts met grote terughoudendheid worden ingezet. In het algemeen kan gezegd worden dat voor verhoogde afbraak als oorzaak van thrombocytopenie andere therapeutische maatregelen nodig zijn, zoals suppressie van autoimmunititeit, miltextirpatie of het stoppen van causale medicatie.

De meeste symptomatische thrombopenien zijn echter te wijten aan gestoorde aanmaak in het kader van door chemo-radiotherapie onderdrukte hematopoiese en dus ook thrombopoiese. Met het beschikbaar komen en vaststellen van het nut van thrombocyten transfusies om in deze situaties bloedingen te kunnen stoppen zijn ook profylactische transfusies in zwang gekomen. Het zoveel mogelijk reduceren van bloedplaatjes transfusies is uit het oogpunt van kosten en verantwoord gebruik van belang. Verder zijn bloedplaatjes transfusies geassocieerde bijwerkingen – zoals koorts, immunisatie en

allergische reacties – ondanks de huidige leukocyten depletie, plasmareductie en verbeterde bacteriologische screening van bloedplaatjesproducten - een andere belangrijke reden voor zoveel mogelijk beperking. Vele studies zijn verricht om met behoud van veiligheid – geen toename van > graad 2 bloedingen – te bepalen of lagere bloedplaatjes aantallen als transfusietrigger of lagere plaatjes doseringen per transfusie verantwoord zijn. Zo lijken de initiële transfusietriggers van $< 20 \times 10^9/l$ zonder verlies aan veiligheid teruggebracht te kunnen worden tot $< 10 \times 10^9/l$. Op dit moment wordt in gerandomiseerde studies gekeken of bij stabiele patienten met transfusies zelfs afgewacht kan worden totdat er sprake is van geringe bloedingen. Dit zgn. therapeutische transfusiebeleid staat of valt natuurlijk bij nauwkeurige klinische follow up van patienten. In de cursus zal een overzicht van deze studies worden gegeven. De belangrijkste conclusies zijn dat inderdaad besparingen op plaatjes transfusies mogelijk zijn maar dat een veilig bloedplaatjes transfusiebeleid niet kan berusten op bloedplaatjes aantal triggers alleen. Er moet ook met de individuele risicofactoren voor bloeding per patient rekening wordt gehouden.

Referenties

1. S.J. Stanworth et al. Platelet transfusion prophylaxis for patients with hematological malignancies: where to now ? *Br.J.Haematol.* 2005. 131; 588-595
2. M.A. Blajchman et al. New Strategies for the optimal use of platelet transfusions. *Hematology 2008 ASH; Education Program Book*

TROMBOCYTENREFRACTAIRITEIT, DIAGNOSTIEK EN TRANSFUSIEBELEID

E.C.M. van Pampus, internist-hematoloog

Als trigger voor een trombocytentransfusie wordt het aantal trombocyten in de context van de klinische situatie gebruikt. Bij een deel van de patiënten heeft zo'n transfusie niet het gewenste resultaat: het aantal trombocyten stijgt onvoldoende of de overleving is te kort. Men noemt deze patiënten refractair voor trombocytentransfusies .

Definitie

Voor de definitie van refractairiteit gebruikt men het corrected count increment (CCI), waarbij de opbrengst (het stijgen van het trombocytenaantal 1 uur na transfusie) en de overleving (het trombocytenaantal 24 uur na transfusie) worden gerelateerd aan het aantal toegediende trombocyten en het lichaamsoppervlak van de patiënt. Refractairiteit is gedefinieerd als een onvoldoende CCI 1 en 24 uur na twee afzonderlijke trombocytentransfusies, waarbij $CCI_{1 \text{ uur}} < 7.5$ en $CCI_{24 \text{ uur}} < 2.5$ is. In de praktijk kan men bloed afnemen voor de 1-uurs waarde 15-75 minuten en voor de 24-uurs waarde 18-24 uur na het inlopen van het bloedproduct. De CCI wordt als volgt berekend:

$$CCI = \frac{\text{trombocytenincrement (10}^9\text{/l)} \times \text{lichaamsoppervlak (LO = m}^2\text{)}}{\text{toegediend aantal trombocyten} \times 10^{11}}$$

In de kliniek blijkt de CCI onhandig en weinig gebruikt. Een eenvoudige rekensom leert echter dat bij het toedienen van respectievelijk 3×10^{11} of 4×10^{11} trombocyten aan patiënten met een lichaamsoppervlak van $1.5\text{-}2 \text{ m}^2$ de opbrengst na 1 uur minimaal $10\text{-}15$, respectievelijk $15\text{-}20 \times 10^9\text{/L}$ en na 24 uur minimaal $4\text{-}5$ respectievelijk $5\text{-}7 \times 10^9\text{/L}$ moet zijn.

Oorzaak

Tal van factoren, zowel immunologische als niet-immunologische, zijn van invloed op het transfusieresultaat. Na het invoeren van de algemene leukocytendepletie in 2002 speelt primaire HLA-alloimmunisatie een minder belangrijke rol en wordt ongeveer 2/3 van alle refractairiteit veroorzaakt door niet-immunologische factoren. In ongeveer 20% van de gevallen is er sprake van beide. De CCI helpt bij de differentiatie tussen immunologische en productgebonden oorzaken enerzijds (geen of onvoldoende opbrengst → lage CCI_{1 uur}) en niet-immunologische factoren (kortere overleving → lage CCI_{24 uur}).

Immunologische oorzaak van trombocytrefractariteit

a) HLA-antistoffen

Antistoffen bij de ontvanger gericht tegen antigenen op donorbloedplaatjes kunnen leiden tot een verminderde opbrengst cq overleving. Bloedplaatjesantigenen betrokken bij deze immuunrespons zijn HLA-, HPA- and ABO-antigenen. Antistoffen tegen HLA-antigenen zijn de belangrijkste immunologische oorzaak van trombocytrefractariteit. Na invoering van de leukocytendepletie van bloedproducten is de primaire HLA-immunisatie belangrijk verminderd. Bij vrouwen met een zwangerschapsanamnese en bij patiënten met een voorgeschiedenis van niet-leukocyten gedepleteerde transfusies is er al eerder contact met allogene HLA-antigenen geweest. Bij deze groepen wordt frequenter HLA-immunisatie en refractairiteit gezien. In het algemeen wordt bij deze patiënten snel na de eerste transfusies (in het algemeen in de eerste 2 weken) de refractairiteit duidelijk. Belangrijk is dat het hebben van antistoffen niet synoniem is met refractairiteit. In oudere studies was 50% van de patiënten met HLA-antistoffen niet refractair. Bijkomende infecties en sepsis kunnen van invloed zijn op klinische refractairiteit.

b) HPA-antistoffen

De HPA-antigenen (human platelet antigens) zijn een biallelisch systeem met een hoog frequent antigeen. Ze geven zelden aanleiding tot antistofvorming en leukocytendepletie van de bloedproducten heeft hierop geen invloed.

Refractairiteit ten gevolge van HPA-antistoffen is zeldzamer en vaak zijn er bijkomende HLA-antistoffen. Indien er, ondanks transfusie van HLA- (en AB0-) compatibele trombocyten, refractairiteit blijft bestaan, is het geïndiceerd onderzoek te verrichten naar HPA-antistoffen. In tegenstelling tot neonatale allo-immuun trombocytopenie en posttransfusie purpura, waar anti-HPA-1a het meest voorkomt, zijn bij transfusie refractairiteit door anti-HPA-5b en anti-HPA-1b het meest beschreven. 70% van deze antistoffen is voorbijgaand en in relatie tot infecties gevormd. Bovendien gaat het vaak (50%) om bloedplaatjes specifieke *auto*-antistoffen.

c) AB0-antistoffen

De AB0-antigenen aanwezig op trombocyten geven zelden aanleiding tot refractariteit. Ook met een AB0-incompatibel product is in principe een veilige trombocytentransfusie mogelijk. In het zeldzame geval van hoge titers IgG anti-A en/of anti-B bij de ontvanger kan echter bij AB0-antigeen incompatibel transfunderen refractairiteit optreden.

De effecten van een AB0-incompatibele trombocytentransfusie kunnen via twee mechanismen verlopen. Door transfusie van incompatibel plasma met antistoffen tegen de AB0 bloedgroep van de ontvanger (minor incompatibiliteit) kan een positieve directe antiglobulinetest optreden, soms gepaard gaande met geringe hemolyse. Alleen bij het toedienen van, ten opzichte van de erythrocytenmassa, grote hoeveelheden incompatibel plasma, zoals bij neonaten en casuïstisch bij niet-myeloablatieve stamceltransplantaties, kan dit problemen opleveren. Isoagglutininen A/B bij de ontvanger (major incompatibiliteit) kunnen de opbrengst van een AB incompatibele trombocytentransfusie verminderen en de overleving verkorten. Daarbij is zowel de titer bij de ontvanger als de dichtheid van AB-antigenen op de trombocytenmembraan van belang. De dichtheid van de A-antigenen zijn vooral bij een A1-donor hoog.

In het algemeen kan men veilig AB0-incompatibele trombocyten transfunderen. Wel dient men rekening te houden met een verminderde opbrengst en is het van belang, zeker bij major incompatibiliteit en actieve bloeding, de opbrengst na 1 uur te controleren.

“Niet immunologische” oorzaken van trombocytenrefractariteit

In de literatuur zijn tal van klinische factoren geassocieerd met de overleving van getransfundeerde trombocyten, zoals infectie, splenomegalie, major ABO-incompatibiliteit, vrouwelijke patiënten met tenminste 2 zwangerschappen in de anamnese of patiënten van het mannelijk geslacht, sepsis met of zonder diffuse intravasale stolling (DIS), medicatie, stamceltransplantatie, autoantilichamen en gebruik van groeifactoren. Bij patiënten die behandeld worden voor een hematologische maligniteit is de combinatie koorts, infectie en medicatie (antibiotica en antimycotica) de meest voorkomende oorzaak van refractariteit. Alhoewel koorts in het algemeen gepaard gaat met een lagere CCI is het onduidelijk in hoeverre bijkomende factoren als infectie en medicatie hiervoor verantwoordelijk zijn. Bij patiënten zonder antistoffen bepaalt de miltgrootte in belangrijke mate de recovery na een trombocytentransfusie. Vlak na infusie is dat ongeveer 60% bij een normale miltgrootte en slechts 0-26% bij splenomegalie. Sepsis met of zonder DIS is zowel bij hematologische als niet hematologische patiënten een oorzaak van trombocytopenie en kan bijdragen aan een verminderde overleving. Medicatie is een belangrijke oorzaak van trombocytopenie en kan ook bij hematologische patiënten de oorzaak zijn van een onvoldoende transfusie-increment of langdurige trombocytopenie. Stamceltransplantatie alleen als oorzaak voor refractariteit is controversieel. Wel kunnen totale lichaamsbestraling (TBI), veno-occlusive disease en graft versus host disease (al dan niet tengevolge van cyclosporine) bijdragen aan een kortere overleving van de bloedplaatjes. Hoewel diverse klinische factoren een rol kunnen spelen bij refractariteit wordt soms ook geen oorzaak gevonden. Waarom dezelfde klinische factoren bij bepaalde patiënten wel en bij andere geen verhoogde trombocytenconsumptie en haemorrhagische diathese geven is eveneens onduidelijk.

Beleid bij trombocytenrefractariteit

De CBO-richtlijn geeft de volgende adviezen bij refractariteit. In eerste instantie adviseert de richtlijn om opnieuw te transfunderen met (niet te oude) random trombocyten, bij voorkeur ABO-identiek. Indien na deze tweede trombocytentransfusie de CCI wederom beneden de 7.5 ligt, moet aanvullend onderzoek worden verricht. Bij afwezigheid van klinische factoren die gepaard gaan met verhoogd verbruik of met

sequestratie van trombocyten, wordt allereerst onderzoek aanbevolen naar antistoffen gericht tegen AB0-, HLA- en HPA-antigenen. Als ook AB0-antagonisme is uitgesloten, duidt een lage 1-uurs CCI vaak, en bij een vrouw met zwangerschapsanamnese zelfs in meer dan 90% van de gevallen, op allo-immunisatie tegen HLA-antigenen. Er zal dan naar een HLA-compatibele donor gezocht moeten worden. Afhankelijk van de HLA-typering van de patiënt is dit meer of minder moeilijk. Een intensieve samenwerking tussen behandelend arts, het transfusie- en HLA-laboratorium, en de klinisch consultatieve dienst van Sanquin is vereist. Slechts in 20% van de gevallen zal een HLA-*identieke* donor kunnen worden gevonden. Daarom gebruikt men in het algemeen matchprogramma's om een HLA-*compatibele* donor te selecteren. Voor een juiste donorselectie is het van groot belang dat het ziekenhuis de opbrengst van de transfusies goed monitort en 1-uurs nawaarden terugcommuniceert aan Sanquin.

Aanvullende maatregelen bij refractairiteit

Refractairiteit kan een lastig probleem zijn. In een recente Nederlandse studie werd bij een deel (n=117) van deze patiënten gekeken naar het effect van refractairiteit op hun overleving. Daarbij werd een associatie gezien tussen een of meer onvoldoende transfusieresultaten na 24 uur en overleving. De overleving van patiënten zonder refractairiteit was 98%, de overleving bij patiënten met ≥ 1 onvoldoende increment 83%. Alhoewel er ook in deze studie geen relatie bestond tussen de hoogte van het trombocytental en de bloedingscomplicaties, hadden de refractaire patiënten langer een getal $<10 \times 10^9/L$ en meer bloedingscomplicaties. Bloedingscomplicaties ten tijde van een aplastische trombocytopenie lijken in meerdere studies te zijn geassocieerd met een verhoogde morbiditeit en mogelijk ook mortaliteit. Bijkomende stollingsstoornissen (vitamine K deficiëntie, ziekte van von Willebrand, laag fibrinogeen etc) moeten worden uitgesloten ofwel behandeld. Indien mogelijk dient oorzakelijke medicatie vervangen dan wel gestopt te worden. Uit gegevens van patiënten met een nierinsufficiëntie en anemie is aannemelijk gemaakt dat er een omgekeerde relatie bestaat tussen de hoogte van de hematocriet en bloedingsneiging. Het verlaten van de 4,5,6 regel en het verhogen van de hematocriet bij een bloedende trombocytopenie patiënt tot boven de 0.30 kan theoretisch een bijdrage leveren aan het beperken van het bloedverlies. Remming van de fibrinolyse, doormiddel van lokale, orale of intra-

veneuze toediening van tranexaminezuur is, bij ontbreken van contra-indicaties (bijvoorbeeld macroscopische hematurie) met name bij bloedingsneiging in mondholte en maagdarmsstelsel zinvol. Toepassing van intraveneus gammaglobuline (of anti-Rh(D)) heeft geen plaats bij de behandeling van trombocytenrefractairiteit ten gevolge van *allo*-antistoffen. Bij ernstige bloedingscomplicaties is het gebruik van recombinant factor FVIIa in combinatie met trombocytenconcentraten te overwegen.

Literatuur

1. Hod E and Schwartz J; Platelet transfusion refractoriness. *British Journal of Haematology*, 2008,142; 348–360
2. Novotny VM et al; Occurrence of allogeneic HLA and non HLA antibodies after transfusion of prestorage platelets and red blood cells: a prospective study. *Blood*, 1995;85:1736-1741
3. Duquesnoy R.J.; Structural epitope mapping for HLA-alloimmunized thrombocytopenic patients : a new strategy to provide more effective platelet support ? *Transfusion*, 2008; 48:221-227
4. Vassallo R.R.; Changing paradigms in matched platelet support. *Transfusion*, 2008; 48:204-206
5. Kerkhoffs J.L. et al; The clinical impact of platelet refractoriness: correlation with bleeding and survival. *Transfusion*, 2008;48:1959-1965
6. Slichter S.J. et al; Factors affecting posttransfusion increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood*, 2005;105:4106-4114
7. Allen D. et al; Interlaboratory variation in the detection of HPA-specific allo antibodies and in molecular HPA-typing. *Vox Sanguinis*, 2007;93:316-324.
8. M Franchini, D et al; The potential role of recombinant activated FVII in the management of critical hemato-oncological bleeding: a systematic review . *Bone Marrow Transplantation*, 2007; 39: 729–735
9. Richard H. Aster R.H. et al; Drug-Induced Immune Thrombocytopenia. *N Engl J Med*, 2007;357:580-7.

**ITP: DIAGNOSTIEK, AL OF NIET TRANSFUSIE, NIEUWE
BEHANDELOPTIES**

H.R. Koene

Bijdrage word tijdens de cursus uitgereikt

THROMBOTIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA (TTP)

R.E.G. Schutgens, internist-hematoloog

TTP is een zeldzame aandoening gekenmerkt door micro-angiopathische trombose, hemolyse en ischemische orgaandysfunctie. Per jaar worden er ongeveer 15 nieuwe gevallen van TTP in Nederland ontdekt. Onbehandeld heeft TTP een mortaliteit van 90%. In de laatste jaren is het duidelijk geworden dat een tekort aan het von Willebrand factor (vWF) protease, a desintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif (ADAMTS-13), aan de basis staat van de pathogenese van TTP (1). Dit resulteert in ultragrote vWF multimeren, welke aanleiding geven tot plaatjesaggregatie en microtrombi (2). Waarschijnlijk zijn auto-immuun processen de oorzaak van het verworven tekort aan ADAMTS-13: in 87-97% van de gevallen worden auto-antistoffen tegen ADAMTS-13 gevonden (3,4).

De diagnose wordt in eerste instantie op klinische gronden gebaseerd, door de triade trombocytopenie, hemolytische anemie en neurologische afwijkingen. Daar kunnen koorts en renale afwijkingen bijkomen. De activiteit van het ADAMTS-13 kan bepaald worden en is verlaagd in de meeste klassieke gevallen van verworven TTP.

De hoeksteen van de behandeling van TTP bestaat uit plasmaferese, waarbij het plasma van de patiënt wordt vervangen door exogeen plasma (5). Hiermee wordt geprobeerd de auto-antistoffen te verwijderen en de tekorten aan ADAMTS-13 te suppleren. De toevoeging van prednison wordt aanbevolen om hiermee de verdere aanmaak van auto-antistoffen te blokkeren. Met deze therapie kan een complete remissie worden bereikt in 85% van de patiënten. Echter, 40-50% van de patiënten krijgt een recidief TTP en de helft hiervan treedt op binnen 2 jaar (6,7). Een nieuwe stap in de behandeling van TTP is het gebruik van rituximab, een chimeer muis/humaan monoclonaal antilichaam gericht tegen het CD20 antigeen op de oppervlakte van de B-lymfocyt (8). Voorlopig wordt rituximab alleen geadviseerd bij refractaire TTP, maar de waarde bij recidief of als eerste lijns therapie wordt momenteel onderzocht. In de cursus zal een casus gepresenteerd worden met opmerkelijk beloop.

Referenties

1. Levy G, Nichols W, Lian E, Foroud T, McClintick J, McGee B, Yang A, Siemieniak D, Stark K, Gruppo R, Sarode R, Shurin S, Chandrasekaran V, Stabler S, Sabio H, Bouhassira E, Upshaw J, Ginsburg D, Tsai H. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001;413:488–494.
2. Moake JL, Rudy CK, Troll JH, et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1982;307:1432-1435.
3. Peyvandi F, Ferrari S, Lavoretano S, Canciani MT, Mannucci PM. von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13) and ADAMTS-13 neutralizing autoantibodies in 100 patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2004;127:433–439.
4. Rieger M, Mannucci PM, Kremer Hovinga JA, Herzog A, Gerstenbauer G, Konetschny C, Zimmermann K, Scharrer I, Peyvandi F, Galbusera M, Remuzzi G, Böhm M, Plaimauer B, Lammler B, Scheiflinger F. ADAMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic microangiopathies and other immunomediated diseases. *Blood* 2005;106:1262–1267.
5. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, Spasoff RA. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* 1991;325:393-7.
6. Moake JL. Thrombotic microangiopathies. *N Engl J Med*. 2002;347:589-600.
7. Shumak KH, Rock GA, Nair RC. Late Relapses in Patients Successfully Treated for Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Ann Int Med* 1995;15;122:569-72.
8. Fakhouri F, Vernant JP, Veyradier A, Wolf M, Kaplanski G, Binaut R, Rieger M, Scheiflinger F, Poullin P, Deroure B, Delarue R, Lesavre P, Vanhille P, Hermine O, Remuzzi G, Grunfeld JP. Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases. *Blood* 2005;106:1932-7.

Auto-immuun-hemolytische anemie: klinische en laboratoriumaspecten

V.M.J. NOVOTNY¹ en M.A.M. OVERBEEKE²

Auto-immuun-hemolytische anemie (AIHA) is een ernstige ziekte met een incidentie van ca. 1/100.000. Hij wordt gekenmerkt door de vorming van auto-antistoffen tegen erythrocyten en episoden met hemolyse. In deze periode kan het hemoglobinegehalte levensbedreigend laag zijn met het risico van cardiale en neurologische complicaties. Fatale afloop komt nog steeds voor.

AIHA wordt benoemd naar het type autoantistoffen: warme of koude AIHA. AIHA kan als ziekte op zich bestaan, maar is in bijna de helft van de gevallen secundair aan andere auto-immuunziekten of hematologische maligniteiten. Het mechanisme van afbraak van de erythrocyten bij AIHA is afhankelijk van het type antistoffen die de AIHA veroorzaken en daarmee is de behandeling van AIHA eveneens afhankelijk van het type AIHA. Is er een onderliggend lijden dan zal de behandeling mede gericht zijn op de onderliggende aandoening. Een belangrijk onderdeel van de behandeling in de acute hemolytische fase is bloedtransfusie. Omdat de autoantistoffen vaak gericht zijn tegen een antigeen dat bij vrijwel iedereen voorkomt, zullen de donorerythrocyten in de meeste gevallen niet compatibel zijn en zullen deze dus eveneens een verkorte overlevingsduur hebben. De laboratoriumdiagnostiek is gecompliceerd en het pretransfusieonderzoek kan daarbij tijdrovend zijn. Bij AIHA is het vaak moeizaam om in aanwezigheid van autoantistoffen tegen erythrocyten onderliggende alloantistoffen tegen erythrocyten uit te sluiten. De aanwezigheid van alloantistoffen kan bij een incompatibele transfusie de hemolyse verergeren. Omdat transfusie echter in de fase van hemolytische crisis levensreddend kan zijn is een goed samenspel tussen behandelend arts en laboratorium noodzakelijk om tot een goed transfusiebeleid te komen voor de patiënt. Hierbij zal de kliniek van de patiënt richtinggevend zijn.

Trefwoorden: auto-immuun-hemolytische anemie; transfusie; immuunmodulatie

Afdeling Bloedtransfusie en Transplantatie Immunologie, UMC St. Radboud Nijmegen¹ en Afdeling Immunohematologie Diagnostiek, Sanquin Diagnostiek, Amsterdam²

Correspondentie: dr. V.M.J. Novotny, Afdeling Bloed Transfusie en Transplantatie Immunologie, UMC St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
Email: v.novotny@hemat.umcn.nl

Auto-immuun-hemolytische anemie (AIHA) is een ernstige ziekte met een incidentie van ca. 1/100.000. Hij wordt gekenmerkt door de vorming van auto-antistoffen tegen erythrocyten en episoden met fulminante hemolyse.

AIHA kan als ziekte op zich bestaan maar is in bijna de helft van de gevallen secundair aan andere auto-immuunziekten of hematologische maligniteiten. Zo is associatie met een andere auto-immuunaandoening zoals SLE, reumatoïde artritis, auto-immune thyreoïditis en pernicieuze anemie beschreven, maar ook bij ovariumcysten, lymfoproliferatieve ziekten en solide tumoren komt AIHA voor. Vooral bij kinderen komt AIHA voor na infectieziekten (1, 2). Ook komt AIHA voor gecombineerd met auto-immuuntrombocytopenie waarbij autoantistoffen gericht zijn tegen trombocyten, resulterend in perifere trombocytopenie. Men spreekt dan van het syndroom van Evans (3).

AIHA wordt ingedeeld op basis van de immunologische en -chemische eigenschappen van de autoantistoffen (tabel 1). Traditioneel kunnen de antistoffen verdeeld worden in warme en koude antistoffen, daarmee aangevend of de optimale reactietemperatuur boven of beneden 30 °C ligt. Het mechanisme van afbraak van de erythrocyten bij AIHA is afhankelijk van het type antistoffen die de AIHA veroorzaken en daarmee is de behandeling van AIHA eveneens afhankelijk van het type AIHA. Is er een onderliggend lijden dan zal de behandeling mede gericht zijn op de onderliggende aandoening (2).

Antistoffen en afbraakmechanisme

Warme autoantistoffen van de IgG- en IgA-klasse

Warme IgG-autoantistoffen op erythrocyten zijn over het algemeen niet in staat tot het binden van complement, evenals IgA-autoantistoffen. Deze antistoffen

Tabel 1. Type autoantistoffen bij AIHA

Warme autoantistoffen

- incomplete warme autoantistoffen:
 - IgG- en IgA-klasse
 - IgM-klasse
- warme autoagglutinen/hemolysinen (IgM)
- geneesmiddel-geïnduceerde hemolytische anemie

Koude autoantistoffen

- bifasische hemolysinen (IgG)
- koude autoagglutinen/hemolysinen (IgM)

zijn optimaal reactief bij 37 °C en beladen de erythrocyten met IgG- respectievelijk IgA-antistoffen. In de meeste gevallen zijn deze antistoffen tevens in het serum aantoonbaar in de indirecte antiglobulinetest en met enzymbehandelde erythrocyten. De directe antiglobulinetest is positief met anti-IgG, respectievelijk anti-IgA, hetgeen duidt op binding in vivo van antistoffen aan erythrocyten.

Bij de afbraak van erythrocyten door deze antistoffen spelen mechanismen die op complementactivatie berusten vrijwel geen rol. Afbraak van erythrocyten wordt in het geval van IgG-warme autoantistoffen uitsluitend teweeggebracht door adherentie van de met IgG beladen erythrocyten aan Fc-receptoren op macrofagen. De IgG-subklassen IgG1 en IgG3 reageren vooral met Fc-receptoren op macrofagen. IgG3-antistoffen reageren veel sterker dan IgG1-antistoffen. De subklasse van autoantistoffen is dan ook van belang voor het effect in vivo.

Warme autoantistoffen van de IgM-klasse

Deze antistoffen zijn in staat tot het binden van complement, met als gevolg complementactivatie en afbraak van erythrocyten. In alle gevallen kunnen complementfactoren in vitro op de erythrocyten worden aangetoond. De directe antiglobulinetest is dan ook positief met anti-complement. Als gevolg van complementactivatie kunnen erythrocyten in vivo worden afgebroken. Volledige activatie van het complement-systeem kan resulteren in intravasale hemolyse. In dit geval spreken we van IgM-hemolysinen van het directe type. Bij gedeeltelijke complementactivatie tot en met het stadium van C3b hechten de met C3b beladen erythrocyten zich aan macrofagen die een C3b-receptor hebben. De celdestructie vindt voornamelijk plaats in de lever, resulterend in extravasculaire hemolyse. Vaak zijn deze antistoffen in vitro in staat enzymbehandelde erythrocyten te hemolysen (hemolysinen van het indirecte type). Deze warme IgM-

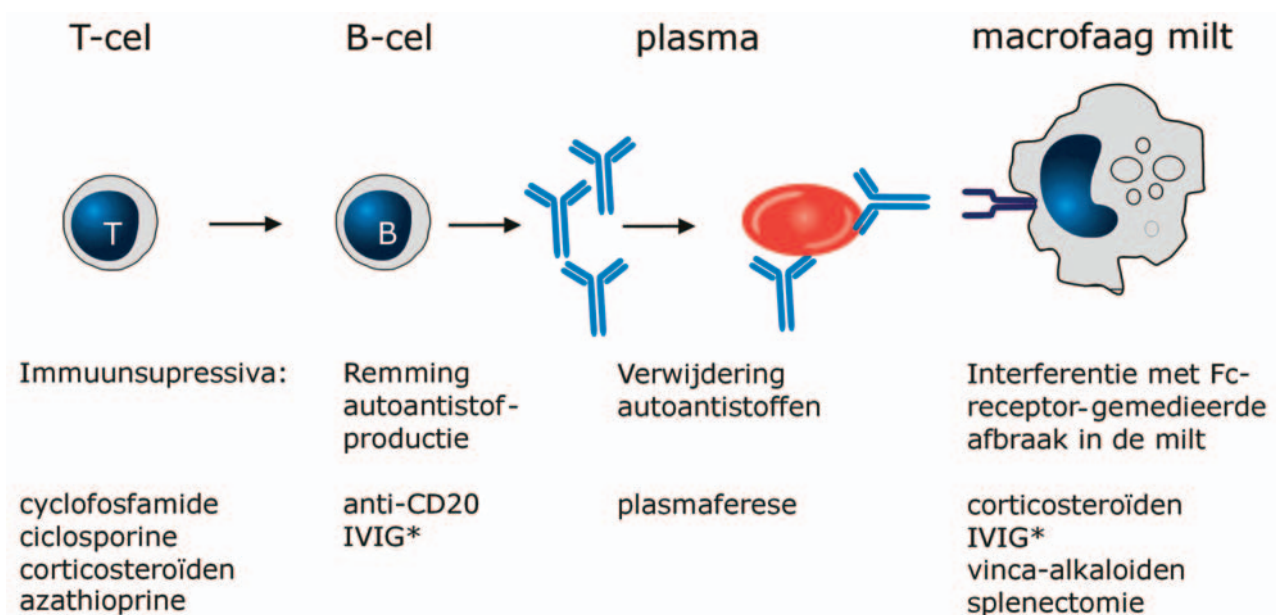
autoantistoffen worden o.a. gezien bij patiënten met een lymfoom.

Bifasische hemolysinen (IgG; Donath- Landsteiner antistoffen)

Deze koude IgG-autoantistoffen binden uitsluitend bij lage temperatuur (lager dan 30 °C) aan erythrocyten. In vivo vindt dit alleen plaats in de aan koude blootgestelde huidvaten. Bij toename van de temperatuur, als het bloed in het gedeelte van de bloedcirculatie komt met een temperatuur van 37 °C, treedt complementactivatie op, waardoor intravasale hemolyse kan optreden met als eventueel gevolg hemoglobinurie (paroxismale koude hemoglobinurie). In korte tijd kan een levensbedreigende hemolyse plaatsvinden. In vitro binden de antistoffen optimaal bij lage temperatuur (0-16 °C) en wordt complement geactiveerd bij 37 °C. Deze twee stadia zijn ook nodig om in vitro een lysisreactie te krijgen (Donath-Landsteinertest). De IgG-antistoffen van niet-gelyseerde, beladen erythrocyten laten bij hoge temperatuur gemakkelijk los, terwijl complementfactoren op de erythrocyten achterblijven. De directe antiglobulinetest met anti-complement is meestal positief en met anti-IgG meestal negatief. Deze antistoffen komen slechts zelden voor en worden meestal gezien bij jonge kinderen na of tijdens virale infecties.

Koude-autoagglutinin/hemolysinen (IgM)

Deze IgM-autoantistoffen reageren optimaal bij lage temperatuur (lager dan 30 °C) en meestal niet bij 37 °C. Hun activiteit in vivo wordt sterk beperkt door hun temperatuuroptimum. Alleen in de oppervlakkig gelegen kleine huidvaten, die aan koude zijn blootgesteld, kan de temperatuur beneden 37 °C dalen en daardoor kan een reactie van de erythrocyten met de antistoffen optreden. Bij sterke afkoeling, bijvoorbeeld in de winter, kan de perifere circulatie door agglutinatie van erythrocyten dusdanig worden beperkt,



Figuur 1. Aangrijpingspunten van de diverse therapieën bij AIHA. IVIG: intraveneus immuunglobuline.

dat acrocyanose en in ernstige gevallen necrose kan optreden. Deze autoantistoffen kunnen chronisch voorkomen; in dit geval zijn de koude-autoagglutinen/hemolysinen monoklonale paraproteïnen, die worden geproduceerd door één kloon van B-lymfocyten. Deze proliferatie van B-lymfocyten kan maligne zijn (M. Waldenström, chronische lymfatische leukemie) of benigne. Soms worden de koude-agglutinen ontdekt voordat een paraproteïne met een immuno-elektroferesetechniek in het serum aantoonbaar is. Er kan ook sprake zijn van een acute passagère vorm. In dit geval komen de antistoffen voor bij een infectieziekte, zijn polyklonaal en verdwijnen weer als de infectie is genezen. Deze complicatie wordt vooral gezien bij infecties met *Mycoplasma pneumoniae* en bij virale infecties, zoals mononucleosis infectiosa. Deze antistoffen binden optimaal bij lagere temperatuur, terwijl de binding bij een temperatuur boven 30 °C wordt verbroken. Bloed afgenomen bij kamertemperatuur vertoont dan ook meestal autoagglutinatie, die verdwijnt door de erythrocyten te wassen met een fysiologische zoutoplossing van 37 °C. De IgM-antistoffen verdwijnen na deze wassing, maar de in vivo gebonden complementfactoren blijven aanwezig. De directe antiglobulinetest is dan ook alleen positief met anti-complement. Acute hemolyse ten gevolge van post-infectieuze vorming van koude autoagglutinen/hemolysinen is meestal 'self limiting'.

Hemolytische anemie door geneesmiddelen

Geneesmiddelen kunnen op verschillende manieren verantwoordelijk zijn voor het positief worden van de directe antiglobulinetest. Daarbij treedt dikwijls hemolytische anemie op (2, 4). Gegevens over gebruikte medicatie is dus in geval van een positieve directe antiglobulinetest altijd van belang.

Het geneesmiddel kan zich binden aan de erythrocytemembraan gevolgd door vorming van antistoffen tegen het geneesmiddel leidend tot versnelde afbraak van de erythrocyten. Het bekendste voorbeeld is penicilline. De directe antiglobulinetest is positief met anti-IgG en in het serum zijn geen antistoffen aantoonbaar met erythrocyten maar wel met erythrocyten die beladen zijn met penicilline.

Een ander mechanisme is de vorming van antistoffen tegen een geneesmiddel waarbij immuuncomplexen worden gevormd die zich aan de erythrocytemembraan hechten. Veel geneesmiddelen kunnen als gevolg van dit mechanisme hemolytische anemie veroorzaken. Bekende voorbeelden zijn kinine, chloorthiazide, tolmetine, rifampicine, probenecide en hydrochloorthiazide. Het immuuncomplex activeert complement en de erythrocyten worden massaal intravasaal afgebroken. De directe antiglobulinetest is positief met anti-complement en het serum is alleen reactief als het geneesmiddel of, in sommige gevallen, een afbraakproduct van het geneesmiddel bij de test zijn toegevoegd.

Sommige medicamenten kunnen de celmembranen veranderen zodat allerlei plasma-eiwitten niet-specifiek aan de celmembranen worden gehecht. Hierdoor wordt de directe antiglobulinetest positief als getest wordt met antihumaan globulineserum dat antistoffen tegen

immunoglobulinen en/of complement bevat. Dit mechanisme leidt niet tot versnelde afbraak van erythrocyten. Er is dus geen sprake van een hemolytische anemie. Het bekendste voorbeeld hiervan is cefalosporine. Cefalosporines kunnen echter ook aanleiding geven tot medicament-gerelateerde antistofvorming. Sommige geneesmiddelen induceren de vorming van autoantistoffen tegen erythrocyten. Het bekendste voorbeeld is alfa-methyldopa. Bij autoantistofvorming zijn de antistoffen niet gericht tegen het geneesmiddel maar tegen antigenen van de erythrocytemembraan. Serologisch is geen onderscheid te maken met een niet-medicament-geïnduceerde AIHA.

Kliniek en therapie van auto-immuun hemolytische anemie (AIHA)

AIHA kan zich acuut presenteren met een hemolytische crisis waarbij het hemoglobinegehalte in uren kan dalen tot kritische waarden. Een disregulatie van het immuunsysteem ligt ten grondslag aan het optreden van AIHA. B-cellen produceren autoantistoffen die gericht zijn tegen de eigen erythrocyten (5). Tijdens de fase van ernstige hemolyse vertonen de patiënten verschijnselen van hypoxie en worden hierdoor bedreigd. De snelle daling van het hemoglobinegehalte kan de patiënt in een levensbedreigende situatie brengen. Het voornaamste doel op dat moment is het handhaven van het hemoglobinegehalte net boven het kritische niveau. Transfusie is van belang in deze situaties van hemolytische crisis (6). Omdat de autoantistoffen vaak gericht zijn tegen een antigeen dat bij vrijwel iedereen voorkomt, zullen de donorerythrocyten in de meeste gevallen niet compatibel zijn en zullen de getransfundeerde erythrocyten dus eveneens een verkorte overlevingsduur hebben. Transfusie is daarom niet zonder risico bij AIHA-patiënten. De laboratoriumdiagnostiek is gecompliceerd en het pretransfusieonderzoek kan daarbij tijdrovend zijn. Alloantistoffen kunnen worden gevormd en moeizaam detecteerbaar zijn door de aanwezigheid van de autoantistoffen. Additionele vorming van alloantistoffen wordt bij 12-40% van de patiënten met AIHA beschreven (2, 7).

Inzicht in de consequenties van de uitslagen van de antistoffenanalyse gerelateerd aan de kliniek van de patiënt is van belang om tot een goed transfusie- en behandeladvies te komen. Het ten onrechte uitstellen van transfusie kan leiden tot onnodige en ernstige dan wel fatale complicaties bij de patiënt.

Behoudens transfusie als ondersteunende maatregel wordt direct gestart met therapeutische behandeling. Is een onderliggende ziekte aanwezig dan is de benadering gericht op behandeling van het onderliggend lijden. De behandeling is verder gericht op het corrigeren of onderdrukken van het auto-immuunproces en/of interventie met de plaats van afbraak van de met autoantistoffen beladen erythrocyten (8).

Bij warme AIHA wordt veelal gestart met corticosteroiden. Een alternatief is behandeling met intraveneus immuuglobuline of het geven van anderszins immuunsuppressieve therapie. Het effect kan enige dagen op zich laten wachten. In deze fase is bij bedreigende hypoxie transfusie geïndiceerd. Een nieuwe

vorm van therapie is behandeling met rituximab. Dit is een monoklonale antistof gericht tegen CD20 en dus tegen de B-cellen. Hiermee wordt de autoantistof-producerende B-celkloon gericht onschadelijk gemaakt. Splenectomie wordt bij warme AIHA veelal in tweede instantie toegepast bij therapiefalen. Hiermee wordt naast het verwijderen van de afbraakplaats ingegrepen in het immuunsysteem.

Vooraf bij koude AIHA is warmte essentieel. Het verwijderen van de autoantistoffen door middel van plasmaferese kan met name bij koude AIHA als tijdelijke ondersteunende maatregel effectief zijn (8).

Het beloop van AIHA bij kinderen is meestal meer benigne en men ziet vaker spontaan herstel. Bij volwassenen is er vaker sprake van refractaire ziekte of het optreden van recidieven. Bij circa 10% van de patiënten met AIHA is er sprake van therapiefalen waarmee het belang van het zoeken naar alternatieve therapeutische benaderingen wordt onderstreept (1, 5, 8).

Laboratoriumonderzoek bij AIHA

Bij de diagnostiek is het van belang gebruik te maken van het verschil in serologisch gedrag tussen de verschillende autoantistoffen.

Voor de karakterisering van erythrocyten-autoantistoffen worden de volgende technieken gebruikt (2, 7):

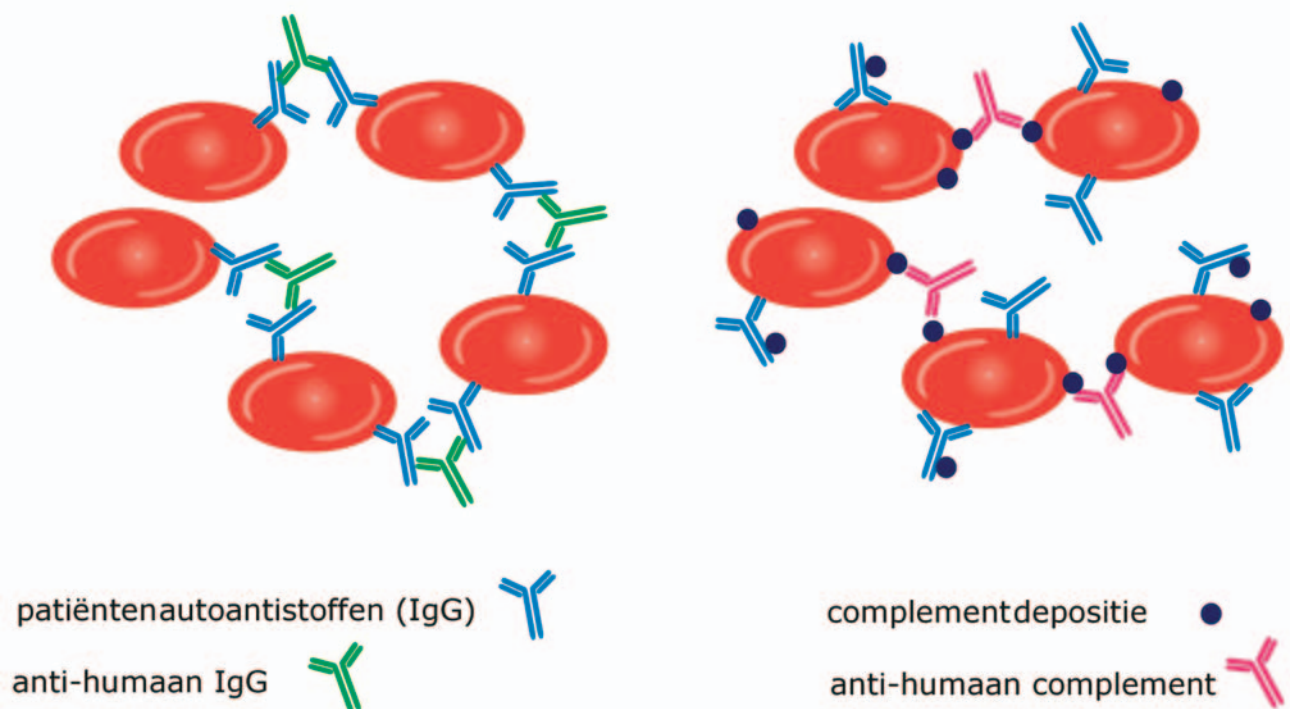
- directe antiglobulinetest met:
- polyspecifiek antiglobulineserum
- Ig-klasse-specifieke antisera
- IgG-subklasse-specifieke antisera
- elutie van aan erythrocyten gebonden antistoffen
- indirecte antiglobulinetest (onderzoek van serum en eluaat)

- bloedgroepspecificiteitsbepaling van de antistoffen in serum en eluaat, waarbij het in geval van bloedtransfusie van belang is de aanwezigheid van alloantistoffen aan te tonen. Hiervoor is in veel gevallen een tijdrovend adsorptieonderzoek noodzakelijk.
- hemolyse-/agglutinietest
- Donath-Landsteiner-test (onderzoek bifasische hemolysinen)

De directe antiglobulinetest (directe Coombs-test)

Voor de diagnostiek van auto-immuun-hemolytische anemieën is de directe antiglobulinetest van centrale betekenis. Met deze test wordt door middel van een polyspecifiek antiglobulineserum nagegaan of zich in vivo antistoffen en/of complementfactoren aan de patiënterythrocyten hebben gehecht. Om de directe antiglobulinetest bij de aanwezigheid van koude-agglutininen te kunnen verrichten, moeten de patiënterythrocyten van tevoren met fysiologisch zout van 37 °C worden gewassen.

Is de reactie van de directe antiglobulinetest negatief dan is de diagnose AIHA minder waarschijnlijk. Het onderzoek dient dan te worden uitgebreid met specifieke antisera tegen de verschillende immunoglobulineklassen (IgG, IgA, IgM) en met specifiek anti-complementserum. De belangrijkste reden hiervoor is dat het polyspecifiek antiglobulineserum geen anti-IgA bevat terwijl IgA-autoantistoffen zonder aanwezigheid van IgG-autoantistoffen in sommige gevallen voorkomen. Verder kan men door gebruik te maken van een elutietechniek eventueel gebonden antistoffen concentreren en dan kunnen soms toch autoantistoffen in het eluaat worden aangetoond.



Figuur 2. Schematische voorstelling directe antiglobulinetest. De aanwezigheid van antistoffen en/of complement op de in de patiënt circulerende erythrocyten wordt zichtbaar gemaakt met antistoffen gericht tegen humane immunoglobulinen (links) of complement (rechts).

Een positieve directe antiglobulinetest is niet altijd het gevolg van autoantistoffen en/of gebonden complementfactoren. Wanneer bij de patiënt IgG-antistoffen worden gevormd na transfusie, dan worden getransfundeerde donorerythrocyten met deze alloantistoffen beladen en geven aanleiding tot een positieve directe antiglobulinetest die gedeeltelijk positief is. Verder kunnen passief toegediende antistoffen (bijvoorbeeld anti-A en anti-B in intraveneus immunoglobuline of in trombocytenconcentraat) binden aan de erythrocyten van een patiënt. Deze kunnen ook een positieve directe antiglobulinetest tot gevolg hebben.

Directe antiglobulinetest met anti-IgG-subklassensera
Als de directe antiglobulinetest positief is met anti-IgG-serum, kan met antisera specifiek voor de IgG-subklassen (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) worden bepaald tot welke subklasse(n) de autoantistoffen behoren.

Elutie van de antistoffen

De antistoffen die gebonden zijn aan de patiënterythrocyten kunnen, met behulp van onder andere zuur of ether, van de patiënterythrocyten worden afgehaald. Dit elutieonderzoek is van belang in verband met de bloedgroepspecificiteitsbepaling van de aan de patiënterythrocyten gebonden antistoffen. Soms is het elutieonderzoek positief terwijl de directe antiglobulinetest negatief is. In dergelijke gevallen kan er toch sprake zijn van een auto-immun-hemolytische anemie.

Indirecte antiglobulinetest met polyspecifiek antiglobulineserum.

De indirecte antiglobulinetest met het serum van de patiënt en een panel van donorerythrocyten wordt gedaan om vast te stellen of er vrij circulerende warmte-autoantistoffen in het serum aantoonbaar zijn. Bij veel patiënten met een positieve directe antiglobulinetest door IgG-warmte-autoantistoffen is ook de indirecte antiglobulinetest met anti-IgG-reagens positief. Bij patiënten bij wie de positieve directe antiglobulinetest veroorzaakt wordt door geneesmiddelgebruik zijn vrije antistoffen veelal alleen aantoonbaar in de indirecte antiglobulinetest in aanwezigheid van het geneesmiddel.

Specificiteitsbepaling van de antistoffen

Van de antistoffen die met behulp van elutie van de patiënterythrocyten worden afgehaald en van de antistoffen in het serum (indien aantoonbaar) wordt de eventuele bloedgroepspecificiteit bepaald. Omdat autoantistoffen die met alle panelcellen reageren, kunnen voorkomen naast alloantistoffen met een bloedgroepspecificiteit is het noodzakelijk uitgebreid onderzoek te verrichten naar aanwezigheid van alloantistoffen. Dit kan door adsorptie van de autoantistoffen aan donorerythrocyten of aan de patiënt zijn eigen erythrocyten. Zo kunnen de autoantistoffen worden verwijderd waarna de mogelijke alloantistoffen over blijven. Hierna kan de specificiteit van alloantistoffen worden vastgesteld. Een belangrijke aanvullende test bij patiënten met IgG-autoantistoffen is een onderzoek naar complementbindende alloanti-

stoffen. Dit onderzoek wordt verricht m.b.v. een tweestaps anti-complementtest. Afbraak door complementbindende alloantistoffen vindt door een ander mechanisme plaats en kan daarmee de hemolyse verergeren indien incompatibel getransfundeerd wordt. Daarom is een niet tijdrovend onderzoek naar complementbindende alloantistoffen aan te bevelen als de uitslag van een adsorptieonderzoek te lang op zich laat wachten.

Hemolyse- en agglutinatie-test

Indien de directe antiglobulinetest alleen positief is met anti-complementserum, kan het serum van de patiënt onderzocht worden in de hemolysetest met enzymbehandelde erythrocyten en de agglutinatie-test bij 16 °C en 37 °C op de aanwezigheid van respectievelijk koude-autoagglutinen/hemolysinen of warmte-autoagglutinen/hemolysinen.

Donath-Landsteiner-test

Om een patiëntens血清 te onderzoeken op de aanwezigheid van bifasische hemolysinen wordt de Donath-Landsteiner-test uitgevoerd. Deze antistoffen worden aangetoond door incubatie van donorerythrocyten bij 0 °C met patiëntens血清, gevolgd door een incubatie bij 37 °C met toevoeging van vers menselijk complement, omdat complementactivatie optimaal bij 37 °C plaatsvindt.

Transfusie bij AIHA-patiënten

Transfusie van erythrocyten bij patiënten met een AIHA dient slechts op klinisch indicatie te gebeuren (4). Veelal zal dit in geval van een acute hemolytische crisis met klinische tekenen van hypoxie noodzakelijk zijn. Hoewel terughoudendheid met transfunderen van belang is mag nooit ten onrechte in geval van klinische indicatie de transfusie worden uitgesteld. Inzicht in de kliniek en de betekenis van de antistofbevindingen is nodig om tot een verantwoord transfusiebeleid te komen. Dit betekent dus specialistische kennis op gebied van kliniek en immunohematologische laboratoriumbevindingen. Hierbij is de kliniek van de patiënt richtinggevend.

Gezien het risico van hemolytische transfusiereacties door alloantistoffen is uitgebreid serologisch onderzoek een noodzaak. Dit onderzoek is zeer tijdrovend (zie 'Laboratoriumonderzoek') en met de planning van de transfusie dient hiermee rekening te worden gehouden. Indien er geen tijd is om aanwezigheid van alloantistoffen uit te sluiten moet overwogen worden een donatie te selecteren die wat betreft resusfenotype, Kell-type en Kidd-type compatibel is aan de patiënt. De belangrijkste reden hiervoor is dat resus en Kell het meest immunogeen zijn en Kidd-antistoffen vaak tevens complementgemedeerde afbraak kunnen veroorzaken. Ook indien geen alloantistoffen zijn aangetoond zal, om het risico van alloimmunisatie te minimaliseren, dikwijls geadviseerd worden om donoren met hetzelfde resusfenotype als de patiënt en Kell-negatief te selecteren omdat de kans op alloantistofvorming tegen deze antigenen het grootst is. Door de aanwezigheid van de autoantistoffen zal de overleving van de donorerythrocyten echter toch ver-

kort zijn. Indien er klinisch relevante alloantistoffen zijn aangetoond, zal er altijd bloed getransfundeerd moeten worden dat negatief is voor het antigeen waartegen de alloantistoffen zijn gericht.

Autoantistoffen kunnen een bloedgroepspecificiteit hebben bijvoorbeeld specifiek voor antigenen van het resussysteem (D, C, c, E, e). Incidenteel wordt ook specificiteit voor andere bloedgroepantigenen gevonden (Kell, Duffy, Kidd, etc.). In het geval van een hoge titer vrij circulerende 'specifieke' autoantistoffen, gekoppeld aan klinisch zeer ernstige hemolyse, kan een donor geselecteerd worden die negatief is voor het betreffende bloedgroepantigeen. Hierbij moet dan soms afgeweken worden van de algemene regel resusfenotype- en Kell-negatief donorbloed te selecteren. Zijn er naast autoantistoffen met specificiteit ook alloantistoffen aanwezig dan wordt uiteraard primair rekening gehouden met de specificiteit van deze alloantistoffen.

Bij chronische AIHA ten gevolge van complement-bindende antistoffen en een stabiel hemoglobinegehalte kan er sprake zijn van slechts een gedeeltelijke complementactivatie en een evenwicht tussen complementactivatie en -inhibitie. De mate van complementactivatie wordt bepaald door de antistoftiter, de optimale bindingstemperatuur en Ig-klasse. Het is nog onduidelijk welke immunologische mechanismen dit beïnvloeden. Voor transfusie is het van belang te beseffen dat erythrocyten van de patiënt beladen kunnen zijn met C3d, waardoor geen verdere activatie van het complementsysteem kan plaatsvinden. De erythrocyten van de patiënt zijn als het ware beschermd tegen verdere afbraak. Transfusie met donorer erythrocyten die niet beladen zijn met dit complement kunnen wel worden gehemolyseerd met als gevolg verstoring van het evenwicht en een massale hemolyse. Transfusie is dan ook nooit geïndiceerd alleen op grond van het hemoglobinegehalte.

Is er toch een klinische transfusie-indicatie dan dient men zich te realiseren dat transfusie gericht moet zijn op opheffen van de bedreigende klinische verschijnselen van hypoxie en niet op normalisatie van het hemoglobinegehalte. Omdat ook getransfundeerde erythrocyten versneld worden afgebroken is langzaam transfunderen, bijvoorbeeld 1 eenheid erythrocyten à 6 uur (circa 1 ml/kg/uur), van belang.

Bij het transfunderen van grotere hoeveelheden erythrocyten in korte tijd wordt een grote hoeveelheid substraat voor hemolyse aangeboden met in korte tijd het vrijkomen van interne erythrocytenbestanddelen. Een te groot aanbod van deze bestanddelen vormen een extra bedreiging voor de nierfunctie.

Conclusie

AIHA is een benigne aandoening, echter met potentieel risico op fatale afloop. Hoewel over het algemeen terughoudendheid met transfusie wordt geadviseerd, kan in geval van een acute hemolytische crisis

bij AIHA transfusie levensreddend zijn. Transfusie van erythrocyten bij patiënten met een AIHA dient slechts op klinische indicatie te gebeuren. Inzicht in de kliniek en de betekenis van de antistofbevindingen is nodig om tot een verantwoord transfusiebeleid te komen. Dit betekent dus specialistische kennis op gebied van kliniek en immunohematologische laboratorium bevindingen. Hierbij is de kliniek van de patiënt richtinggevend.

Literatuur

1. Dacie J. The immune haemolytic anaemia's: a century of exciting progress in understanding. *Br J Haematol* 2001; 114: 770-785.
2. Petz LD, Garraty G. Immune haemolytic anemias, second edition Churchill Livingstone, 2004
3. Roberts NA. Management of Evans syndrome. *Br J Haematol* 2006; 132: 125-137.
4. Garraty G. Drug induced immune hemolytic anemia's; the last decade. *Immunohematol* 2004; 20: 138-146.
5. Semple JW, Freedman J. Autoimmune pathogenesis and autoimmune hemolytic anemia. *Sem Hematol* 2005; 42: 122-130.
6. Petz LD. A physician's guide to transfusion in autoimmune hemolytic anaemia. *Br J Haematol* 2004; 124: 712-716.
7. Branch DR, Petz LD. Detecting alloantibodies in patients with autoantibodies. *Transfusion* 1999; 39: 6-10.
8. King KE, Ness PM. Treatment of autoimmune haemolytic anemia. *Sem Hematol* 2005; 42: 131-136.

Summary

Autoimmune hemolytic anemia; clinical and laboratory matters. Novotny, VMJ, Overbeeke MAM. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2006; 31: 269-274.

Autoimmune haemolytic anaemia (AIHA) is a serious disease with an incidence of approximately 1/100.000. It is characterized by the development of autoantibodies against erythrocytes and episodes with massive antibody related haemolysis. Patients may suffer from life threatening low haemoglobin levels and are at risk for ischemic cardiac complications, and severe neurological complications. Fatal outcome has been described. The mechanism of red cell destruction in patients depends on the type of autoantibodies formed. In case of a haemolytic crisis in AIHA, the so-called acute haemolytic phase, haemoglobin levels can drop to life threatening low levels and patients are at risk for hypoxic complications and even death. The main objective at that moment is to keep haemoglobin levels above the critical level. Transfusion is an important part of the treatment at that time. However transfusion therapy is not without risk in patients with AIHA. An important complication in AIHA patients is the formation of red cell alloantibodies. Reliable detection of red cell alloantibodies in the presence of autoantibodies is technically difficult and sometimes these clinically important red cell alloantibodies may not be detected. When this is the case, transfusion is a risk, since incompatibility may lead to more severe haemolysis. Transfusion however is essential in the phase of haemolytic crisis. Combining the results of laboratory investigation and the clinical condition of the patient is essential in the treatment of patients with haemolytic crisis. The clinical condition of the patient is leading in the decision to transfuse.

Keywords: Autoimmune haemolytic anaemia; transfusion; immune modulation