

15-02-2024 Kennisplatform Noordoost



Anti-CD38 therapie bij AIHA

Gepersonaliseerde diagnostiek
voor het uitsluiten van
alloantistoffen in een complexe
setting



umcg



Er zijn geen (potentiële) belangenverstrengelingen

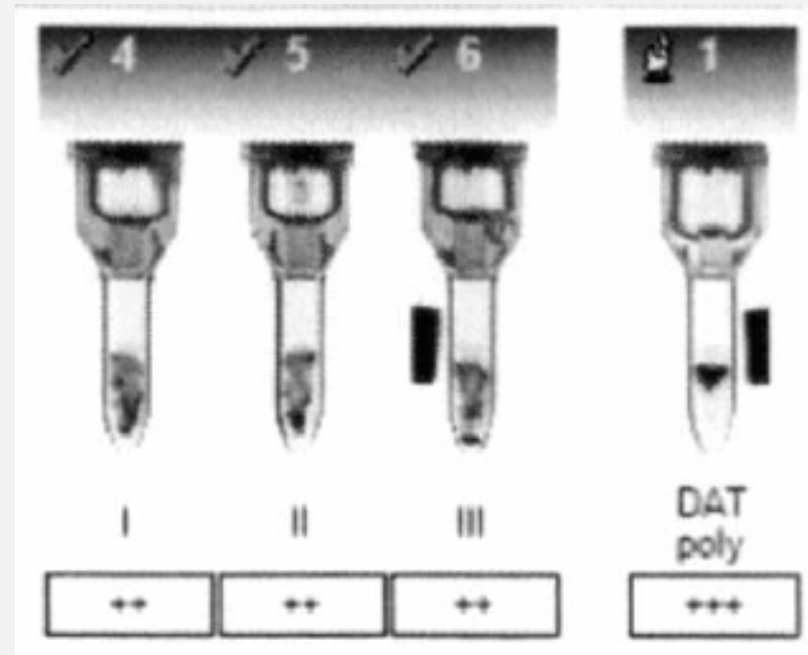
Henk Meekers, wetenschappelijk medewerker
Laboratoriumgeneeskunde, Bloedtransfusielaboratorium, UMCG

Patiënt (ZKH regio)

- Voorheen gezonde man, 59 jaar
- Toenemende vermoeidheid sinds een week
- Gelig zien, donkere urine
- Bloedprikken: anemie
- DD AIHA?

Lab (ZKH regio)

- A, anti-B; RhD neg
- IAT-LISS alles 2+
- DAT (poly) 3+
- Hb 3,4 mmol/L
- 2x RBC **z.s.m.**



IHD ingestuurd naar UMCG

Biqn	A	B	Dur-	chl	
	4	-	-	-	
	A ₁	B			
	-	2			

LDAG	IgG	IgA	IgM	C _{3c}	C _{3d}
	4	-	-	-	-
	chl				
	-				

L/c	44-1	1	2	3	4	5
	2	+	2	2	2	
	6	7	8	9	10	
	2	2	2	2	2	
	11	ec				
	2	3				

Lpap	44-1	1	2	3	4	5
	3	3	2	3	2	
	6					
	2					

454903
 A1b
 met serum

Bloknummer				B1
CLB	456788			
1	2	3	ec	
<u>2</u>	<u>2</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	

Eluaat 4+ (aspecifiek) Sterke aspecifieke IgG warmte autoantistoffen

Typering

	C	E	K
	-	-	-
cfL			

Bloknummer D7

	2327	10	11
anti M	4	4	-
8-45495		11	10
N	-	4	-
8-45496		9	8
S	3	3	-
8-45497		8	9
S	3	3	-
201221			

Bloknummer D2

	ec	+1	-4
eFya	3	3	-
260141		1	4
eFyb	3	3	-
450774			4
eWca	-	3	-
451261		mis 6740 16	
ab	-		
452314			

CCC pos/neg 456651
lgG 455378

Bloknummer B1

	ec	+4	-5
Jka	-	4	-
314401		4	3
Jkb	3	3	-
3134051			

Negatief voor: **C, E, K, Jka** en **N**

Absorptie van autoantistoffen

- Allogene donorcellen, 5ml (voor 4x absorptie)
- Geselecteerde donor: C-, E, K-, Jka-, Wra-
- Bromeline behandelen
Duffy en MNSs niet nodig, worden er in principe afgeknipt
- 1ml plasma + 1ml LISS + 1ml packed-cells
- 20 min 37°C incuberen
- 10 min 1.500g afdraaien

Absorptie van autoantistoffen

- Controleren op autoantistoffen in IAT-LISS
- 10µl 3% donorcellen (behandeld/onbehandeld)
- 80µl absorbaat (40µl plasma / 40µl LISS)

Bromeline behandeld	Onbehandeld	Bevinding
POS	POS	De absorptie is <u>niet volledig</u> geweest. De procedure wordt herhaald (maximaal 4x)
POS	NEG	De absorptie is <u>voldoende</u> → uitsluiten alloantistoffen
NEG	POS	De absorptie is <u>volledig</u> → uitsluiten van alloantistoffen

Uitslag

Abso

	onb	beh
1 ^e keer	—	— ⁺

Aantal	Bromeline behandeld	Onbehandeld	Bevinding
1x	POS	NEG	De absorptie is <u>voldoende</u> → uitsluiten alloantistoffen

2^e keer inzetten

	1	2	3	
	—	—	—	
	①	②	③	④
KRPR	—	—	—	—

- Screening **negatief**
- Kruisproeven (A neg, C-, E-, K-) **negatief**

Voor- en nadelen procedure

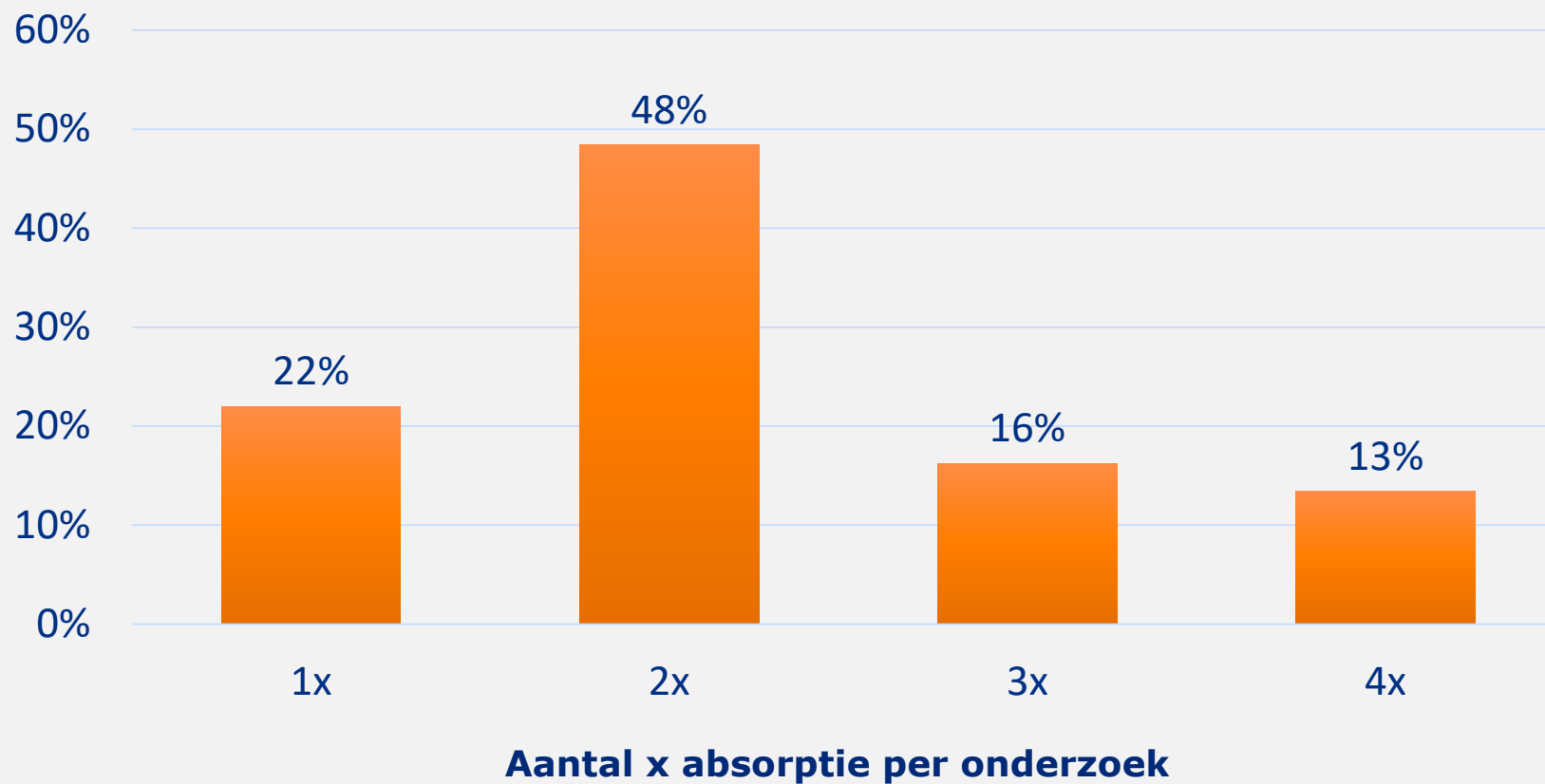
Voordelen

- Niet de volledige typering nodig (CcDEe, K, Kidd)
- Rh-autoantistoffen binden sterk
- Relatief snel (20 min per stap)

Nadelen

- Mist mogelijk specifieke autoantistoffen
- Geen typering mogelijk bij recente transfusie RBC
- Geen absorptie mogelijk bij autoantistoffen die niet enzymreactief zijn

Absorptie 2022 - 2023 (\pm 320)



Overname door UMCG

- Beloop zkh regio:
 - Dagelijks RBC
 - Gestart met prednison 40mg, daarna 1mg/kg/dag
 - 4 dagen later rituximab 1000 mg
 - Tevens vitamine-B12 en foliumzuur

Lab hematologie/chemie

Gemeten (opname)

- Leuko **29,8**
- Hb **2,4**
- Trombo **99**
- LDH **3.081**
- Bili (totaal) **163**
- Reti % **60,2**
- *Reti abs* **67,4**
- Hapto **< 0,1**
- CRP **111**

Referentiewaarden

- 4,0 – 10 x10⁹/L
- 8,5 – 11 mmol/L
- 150 – 400 x10⁹/L
- < 248 U/L
- < 17 µmol/L
- 8,6 – 13,6 Promille
- 30 – 100 x10⁹/L
- 0,2 – 2 g/L
- < 5 mg/L

Overname door UMCG

- Beloop zkh regio:
 - Dagelijks RBC
 - Gestart met prednison 40mg, daarna 1mg/kg/dag
 - 4 dagen later rituximab 1000 mg
 - Tevens vitamine-B12 en foliumzuur
- Koorts Cave: *S. Aureus* bacteriëmie, w.v. start antibiotica
- Ontstaan buikpijn w.v. CT abdomen: afwijkend aspect milt, licht vergroot met infarcten
- Conclusie: ernstige anemie o.b.v. AIHA (warmte autoantistoffen)

Onderliggende oorzaak AIHA?

- Infecties: CMV, HIV en HCV neg; EBV en Parvo IgM neg
 - *Zeldzaam: Brucella, Bartonella onwaarschijnlijk*
Leishmania – negatief
- Geen sepsis of darmischemie
- Lymfoom?
- Geen respons op immuunsuppressie
- Progressieve trombocytopenie DD Evans, ITP, pooling?
- Lactaat/metabole acidose w.v. **IC opname**

Beleid

- Dagelijks RBC
- Continuering steroiden
- IVIG (2x)
- Beenmerg (cytologie): *zeer reactief beenmerg, met sterk toegenomen afwijkende erythropoëse en passend bij aanwezige AIHA*
- Aangemeld voor **splenectomie**

Pathologie van de milt

- Vergrote milt waarin naast extramedullaire hematopoëse ook talrijke necrosehaarden
- Middels histochemische kleuringen geen micro-organismen (*bacteriën, Leishmania, gisten/schimmels*)
- Geen specifieke diagnose, geen granulomen
- Ook na lymfklieronderzoek, geen aanwijzingen gevonden voor maligniteit

Vervolg beleid

- Klinisch wel herstel, maar blijft vermoeid en transfusie afhankelijk
- In totaal 4 giften rituximab (1x/wk)
- Prednison 1mg/kg/dag: verwacht < 3 weken effect, dan dosis halveren en verder afbouwen over 2-3 maanden

HEMOCYTOMETRIE

HEMATOLOGIE

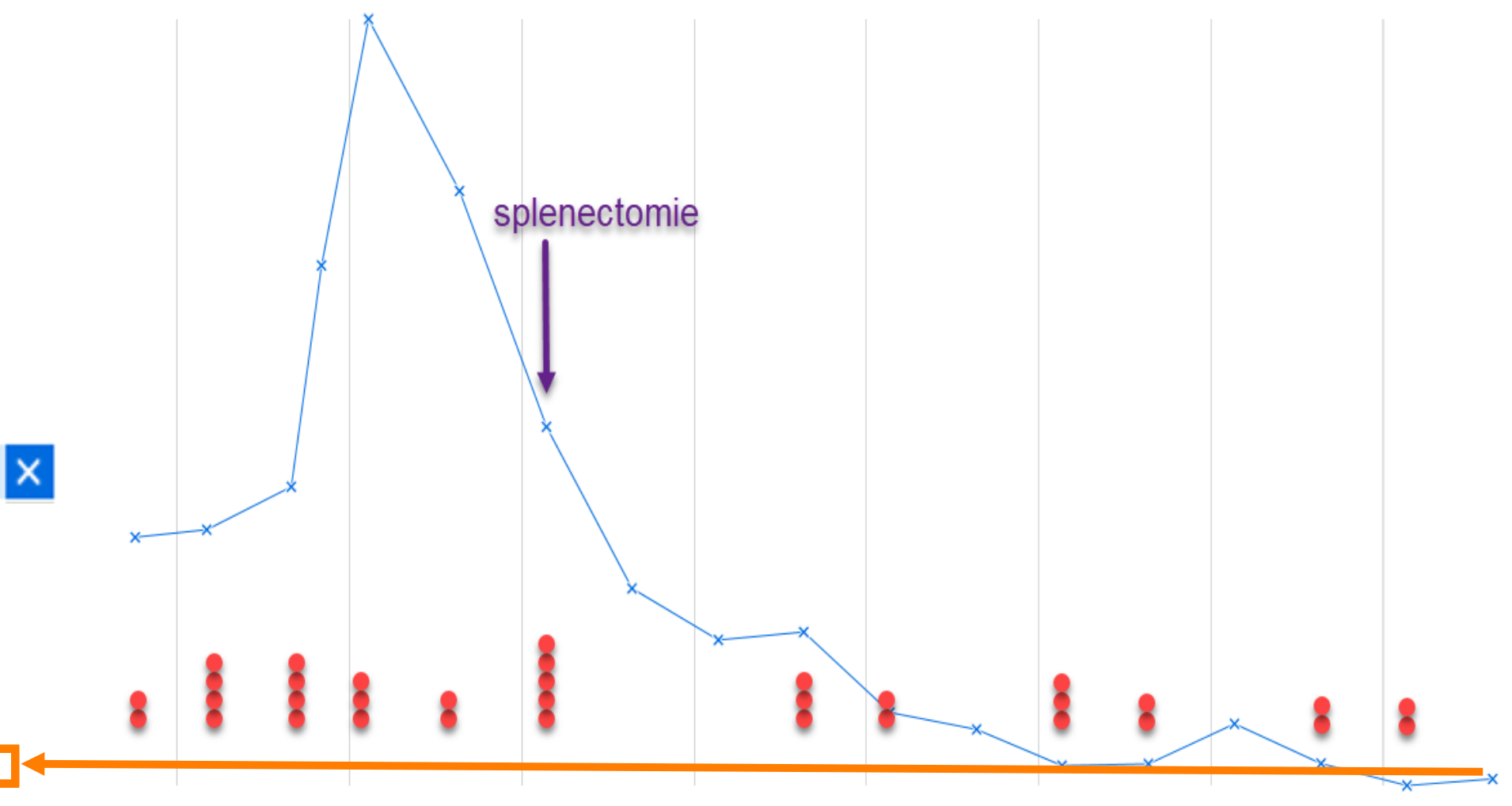
STOLLING

CHEMIE

- CRP
- Glucose
- Natrium
- Kalium
- Chloride
- Kreatinine
- EGFR
- Ureum
- Calcium
- Fosfaat
- Magnesium
- Albumine (BCG)
- Eiwit totaal
- Troponine T
- CK

LDH

- ASAT
- ALAT
- Alkalische fosf...
- Gamma-GT
- Bilirubine totaal
- Bilirubine direkt
- Amylase
- Triglyceride
- Ferritine
- Vitamine B12
- Foliumzuur

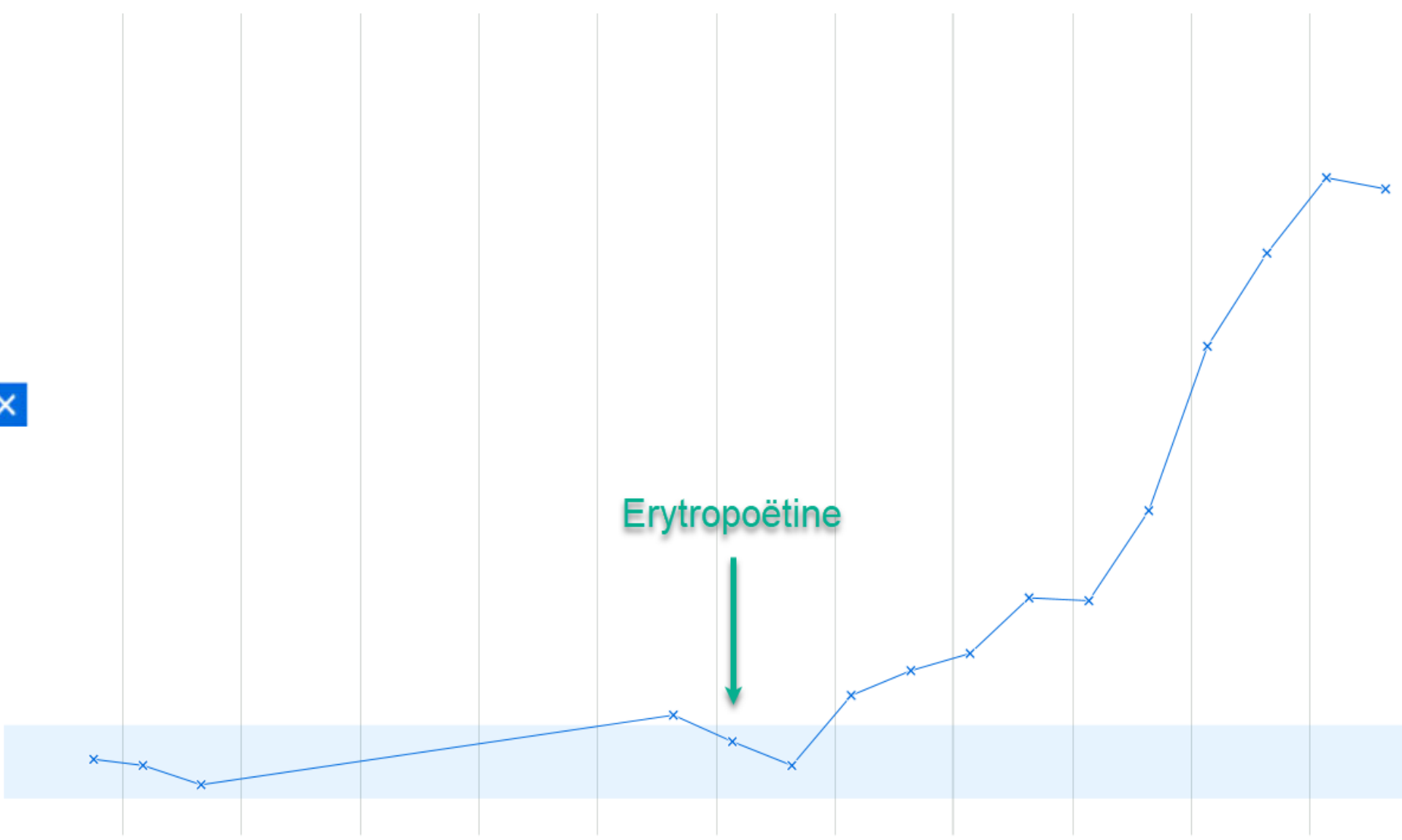


HEMOCYTOMETRIE

Leukocyten	
Hb	760
Ht	740
MCV	720
Trombocyten	700
Trombocyten i...	680
Neutrofielen (A...	660
Lymfocyten (A...	640
Monocyten (Abs)	620
Eosinofielen (A...	600
Basofielen (Abs)	580
Onrijpe granul...	560
MCH	540
MCHC	520
RDW-cv	500

Reticulocyten (...)

Reticulocyten (...)	380
Erytroblasten (...)	360
Onrijpe reticul...	340
RBC-He	320
RET-He	300
Delta-He	280
	260
	240
	220
	200
	180
	160
	140
	120
	100
	80
	60
	40
	20
	0



2022
18-7

22-7

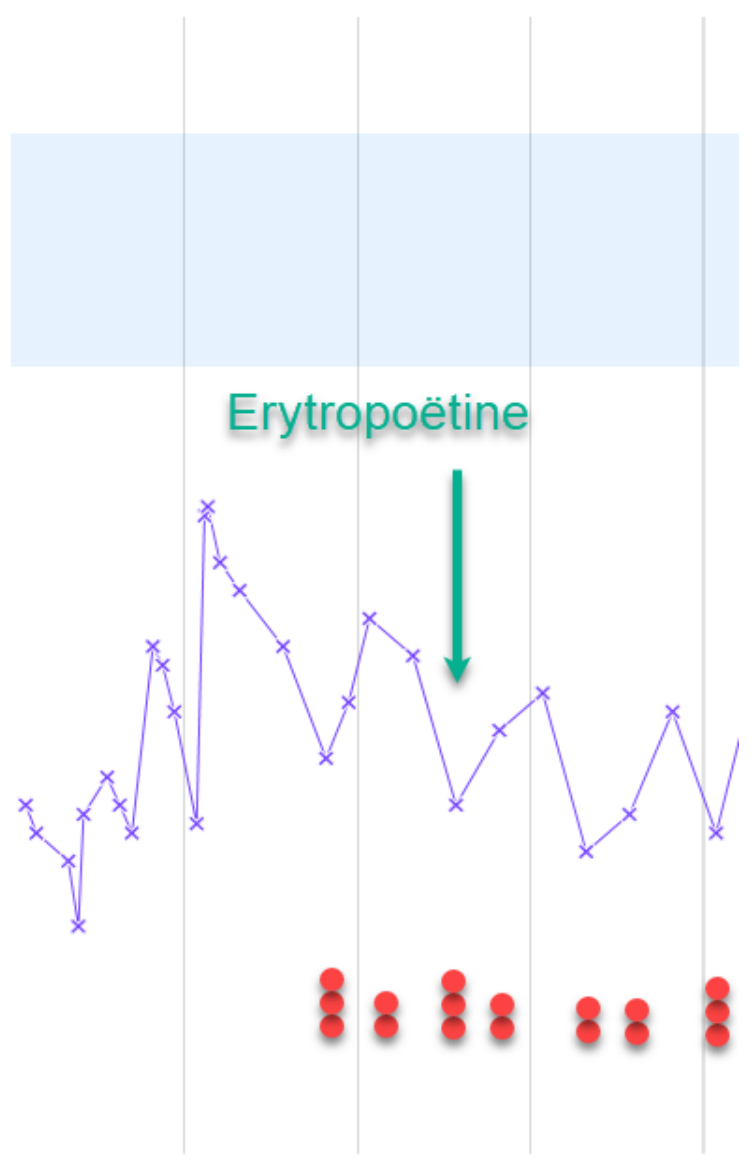
26-7

30-7

3-

HEMOCYTOMETRIE

- Leukocyten
- Hb**
- Ht
- MCV
- Trombocyten
- Trombocyten i...
- Neutrofielen (A...
- Lymfocyten (A...
- Monocyten (Abs)
- Eosinofielen (A...
- Basofielen (Abs)
- Onrijpe granul...
- MCH
- MCHC
- RDW-cv
- Erytrocyten
- Reticulocyten (...)
- Reticulocyten (...)
- Erytroblasten (...)



Vervolgonderzoek

- Flow beenmerg

Subpopulatie monoklonale plasmacellen (ca 59% v.d. plasmacellen), synthese van vrije lichte keten Lambda

- Beleid

4^e lijn behandeling -> plasmacel kloon: 4 giften
Daratumumab

Behandeling

Daratumumab in rituximab-refractory autoimmune haemolytic anaemia
British Journal of Haematology, 2021, 194, 921–934

Behandeling	Aangrijpingspunt	Bijzonderheden
Prednison	1. Schakelt B-cellen uit 2. Blokkeert de receptor in de milt	Niet bij koude-agglutininesyndroom
Splenectomie (verwijderen van de milt)	1. Rode bloedcellen worden minder makkelijk weggevangen 2. Een grote bron van B-cellen wordt uitgeschakeld	Niet bij koude-agglutininesyndroom
Gammaglobuline	Blokkeert voor enkele dagen de receptor in de milt	
Rituximab	Schakelt B-cellen uit	Vooral bij koude-agglutininesyndroom
Azathioprine (Imuran) Cyclofosfamide (Endoxan)	Schakelen B-cellen uit	
Danazol	Stimuleert de aanmaak van rode bloedcellen	
Plasmaferese	Verwijdert de antistoffen uit de bloedbaan	Vooral bij IgM-antistoffen en bij koude-agglutininesyndroom

B-cellen: CD20+, CD38-

Plasmacellen: CD20-, CD38+

Anti-CD38 + auto-antistoffen

- CD38 wordt vernietigd door AET of DTT
- Hoe te combineren met absorptie van auto-antistoffen?
- Gekozen voor DTT + IAT-LISS (in buisjes)
- Twee cellen geselecteerd: R₁R₁, K-, M- en R₂R₂, K-, Jkb-
zodat we uit kunnen sluiten C, D, E, Jka en N
- Ingevroren in stikstof, na ontdooien 3-5% in ID-Diluent 2 (LISS, BioRad)
- Cellen behandeld met 0,2M DTT (4:1)
- Test: 50µl 3-5% RBC + 200µl absorbaat (*100µl LISS + 100µl plasma*)

IAT-LISS (kolom)

QC
+ IEA
antibeh.
1/2
beh.
1/2

Bloknummer

	R ₁ R ₁ ①	R ₂ R ₂ ②	Jk ⁹⁺ rr ③	Jk ⁹⁻ rr ④
antibeh. 1/2	2	2	+	-
beh. 1/2	3	3	2	+

Patient + DARA

Bloknummer

	R ₁ R ₁	R ₂ R ₂	Jk ⁹⁺ rr	Jk ⁹⁻ rr
antibeh. 1/2	2	+	2	2
beh. 1/2	-	-	+	+

plasma

	R ₁ R ₁	R ₂ R ₂	Jk ⁹⁺ rr	Jk ⁹⁻ rr
antibeh. 1/2	2	2	2	2
beh. 1/2	2	2	2	2

Absorbat

	R ₁ R ₁	R ₂ R ₂	Jk ⁹⁺ rr	Jk ⁹⁻ rr
antibeh. 1/2	-	-	-	-
beh. 1/2	-	-	+	+

Controle DTT

α F4 200141 15

Bloknummer F5

orb.	①	②	③	④
	3	3	3	-
beh.	①	②	③	④
	3	3	3	-
	+	-		
	3	-		

CCC pos/neg 456274
 IgG M/P 455378

-

Bloknummer F7

α G 454805

beh	①	②	③	④
	-	-	-	-
	+	-		
	3	-		

IAT-LISS (buisjes)

CCC +IEA	①			④	
onb	— 2			— —	15' 30" C
beh	— 2			— —	15' 30" C

CCC (pos/neg) 458874
 IgG (M/P) 455313

patient + clara				③	
onb				— +	
beh				— —	

CCC (pos/neg) 458874
 IgG (M/P) 455313

IAT-LISS (buisjes)

plasma	①		③		
orb	- 3		- 3		15' 30"
beh	- 3		- 3		

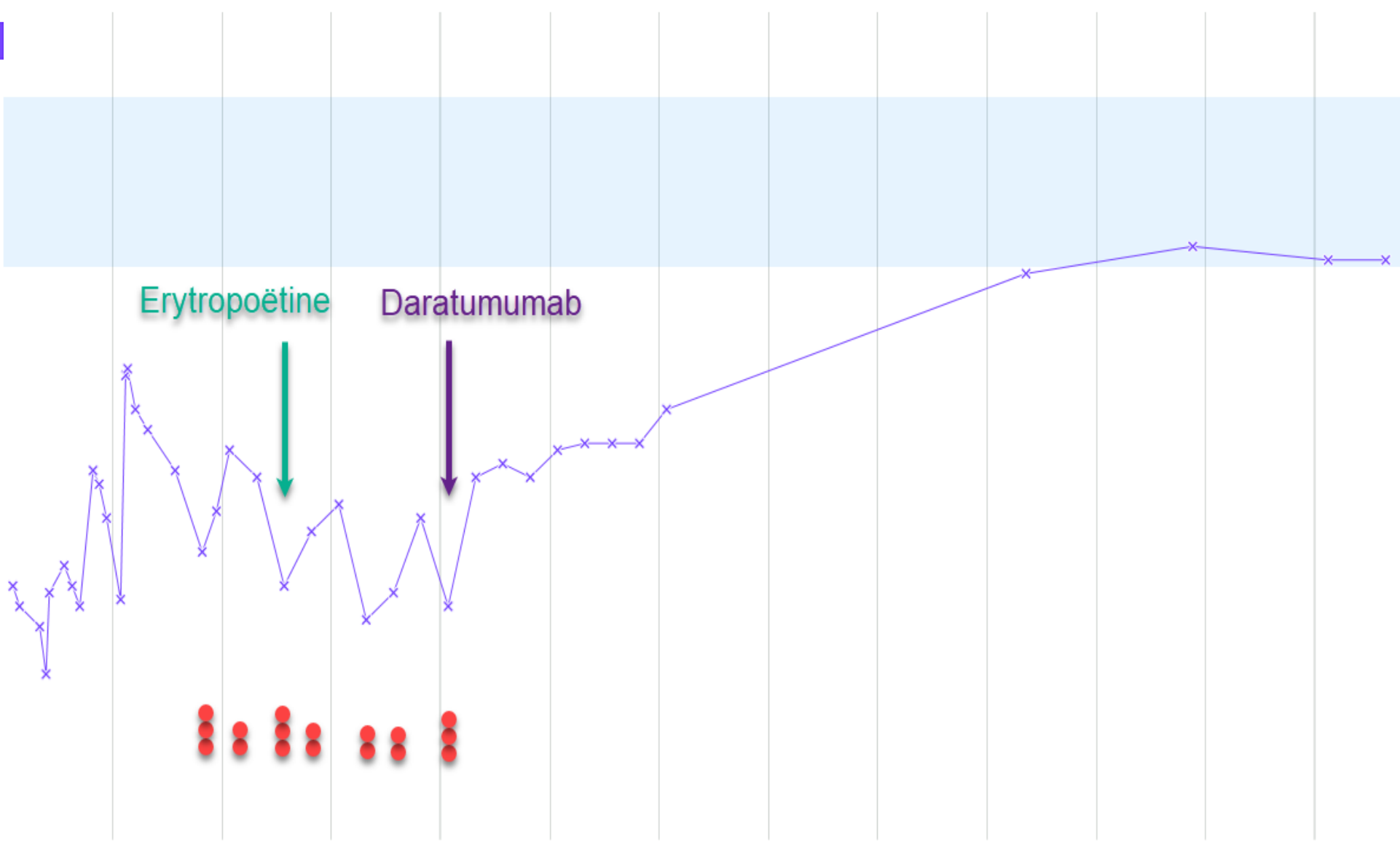
CCC pos / neg
 IgG M/P 455213

plasma	①		③	
orb				
beh	- 3		- 3	

CCC pos / neg 456044
 IgG M/P 455313

HEMOCYTOMETRIE

- Leukocyten
- Hb**
- Ht
- MCV
- Trombocyten
- Trombocyten i...
- Neutrofielen (A...
- Lymfocyten (A...
- Monocyten (Abs)
- Eosinofielen (A...
- Basofielen (Abs)
- Onrijpe granul...
- MCH
- MCHC
- RDW-cv
- Erytrocyten
- Reticulocyten (...)
- Reticulocyten (...)
- Erytroblasten (...)



Take home message

- Anti-CD38 als 4^e lijn therapie mogelijk bij AIHA refractair voor 1^e-3^e lijns therapie
- Combinatie van auto-antistoffen en anti-CD38 bemoeilijkt uitsluiten van irregulaire erythrocytenantistoffen
- Complexe diagnostiek insturen naar referentie laboratorium

Bouwen aan de toekomst van gezondheid



umcg