

# Even voorstellen: topspeler met brede expertise

**Van de eerste diagnose tot de laatste stappen van een stamceltransplantatie is Sanquin intensief betrokken bij de behandeling van patiënten met leukemie: met geavanceerde diagnostiek op moleculair niveau, bloedproducten op maat, vernieuwende 'advanced therapeutic medicinal products' en onderzoek op elk onderdeel binnen de keten. Het illustreert onze kracht: brede expertise verenigd onder één dak.**

Sanquins betrokkenheid bij kwaadaardige bloedcelziekten begint bij de diagnose. Het laboratorium Immunocytologie onderzoekt de beenmergpuncties van 15 tot 20 patiënten per week op de aanwezigheid van afwijkende bloedcellen. Christa Homburg, hoofd van het laboratorium: "Wanneer er sprake blijkt te zijn van een acute leukemie, bepalen we precies wat voor soort leukemie de patiënt heeft. We hebben hiervoor twee technieken: flowcytometrie en moleculaire diagnostiek.

Bij flowcytometrie bestuderen we de eiwitten op de buitenkant van de witte bloedcellen, met behulp van een flowcytometer. We weten precies welke eiwitten er op een cel moeten zitten in iedere fase van uitrijping. Een afwijking van de norm is een indicatie voor de diagnose. Het kan een behoorlijke puzzel zijn: we kijken naar een combinatie van in totaal dertig eiwitten. Zeker bij acute leukemie is er veel haast bij een diagnose en bellen we binnen een dag de uitslag door." Bij de andere vorm van diagnostiek op Homburgs lab, de moleculaire diagnostiek, onderzoeken de analisten het DNA. Homburg: "Meestal ontstaat een celwoekering omdat er iets in het DNA veranderd is. Van een aantal van die mutaties weten we dat ze ziekmakend zijn. Bovendien weten we van veel andere mutaties dat ze van invloed zijn op de reactie van de patiënt op verschillende behandelvormen.

Staannd, van links naar rechts: Marian van Kraaij, Martijn Nolte, Christa Homburg, Junior Lardy, Sacha Zeerleder, Masja de Haas. Zittend: Marian Klijn Velderman, Carlijn Voermans.

Neem bijvoorbeeld *translocatie t(15:17)*, waarbij tijdens de celdeling een stuk van chromosoom 15 aan chromosoom 17 is gaan vastzitten. Daarbij is de receptor voor vitamine A betrokken. Als wij een *translocatie t(15:17)* hebben aangetoond, kan een patiënt worden behandeld met onder andere vitamine A-derivaten. Maar je moet wel snel zijn, anders hebben deze patiënten grote kans te overlijden aan een stollingsprobleem. Als wij 's ochtends het patiëntmateriaal binnenkrijgen, hebben we 's middags al de uitslag en kan men diezelfde dag nog beginnen met de behandeling met vitamine A."

## Moleculair platform

Flowcytometrie zet Sanquin met name in voor de diagnose; moleculaire diagnostiek vooral om te adviseren over de behandelwijze en te monitoren of de behandeling aanslaat. Moleculaire diagnostiek helpt vaak ook om onderscheid te maken tussen leukemieën met een zeer slechte of juist relatief goede prognose, wat weer belangrijk is voor het behandelplan. Bijzonder aan de moleculaire diagnostiek van Sanquin is dat die tegenwoordig wordt uitgevoerd in een volautomatische robotstraat, het moleculair platform. Homburg: "Alleen de witte bloedcellen isoleren we nog handmatig, voor de rest gaat alles geautomatiseerd.

Voordeel is dat we snel grote aantallen kunnen diagnosticeren, waarbij de foutgevoeligheid ook nog eens veel lager is dan bij handmatige diagnostiek." Sanquins moleculaire platform is bovendien zó ingericht dat het voor heel veel verschillende op PCR gebaseerde bepalingen tegelijkertijd bruikbaar is, en binnenkort ook voor Next Generation Sequencing (NGS). "Met deze grote flexibiliteit zijn we uniek in Nederland", zegt Homburg. "Met NGS kun je 100 genen tegelijkertijd beoordelen, dus je krijgt op een snellere en goedkopere manier méér informatie. We gaan de komende tijd onze expertise in NGS verder uitbreiden, niet alleen op het gebied van leukemieën maar ook voor andere ziektebeelden. Want de tendens in de zorg is dat er steeds meer patiëntspecifieke behandelingen komen, op basis van hun genetisch profiel."

Met moleculaire diagnostiek kan bovendien gevolgd worden of de behandeling aanslaat bij de patiënt. "Nadat je een genetische afwijking in de leukemische cellen hebt vastgesteld, kun je blijven volgen in hoeverre die cellen nog aanwezig zijn. Iedere tumorcel heeft de genetische afwijking in zich. Hoe minder je die ziet, des te beter de behandeling werkt."

## Stamceltransplantatie

Wat de behandeling betreft zijn er verschillende wegen te bewandelen, afhankelijk van de vraag of de leukemie als hoog- of laag-risico is gediagnosticeerd. Sacha Zeerleder is

## Groepsportret





## We breiden onze expertise in NGS uit naar andere ziektebeelden

hoofd van het transplantatieprogramma in het AMC en onderzoeker op de afdeling Immunopathologie bij Sanquin. “Bij laag-risico-leukemie heb je grote kans dat de leukemie met alleen chemotherapie wegblijft en nooit meer terugkomt. Bij hoog-risico-leukemie weet je bij voorbaat al dat chemotherapie alleen niet goed genoeg is, en dat er waarschijnlijk een allogene stamceltransplantatie nodig is. Daarmee geef je het immuunsysteem van iemand anders aan de patiënt. Dat nieuwe immuunsysteem heeft de taak de leukemische cellen te vernietigen. Overigens voeren we bij laag-risico-leukemie soms ook stamceltransplantaties uit, maar dan met van de patiënt zelf afgenomen stamcellen (autoloog, ofwel *stem cell rescue*). Dat doe je alleen om te zorgen dat de patiënt minder lang afhankelijk is van bloedtransfusies en zijn bloedbeeld sneller herstelt met zijn eigen bloedvormende stamcellen, na een heel zware chemotherapie.”

### Donor gezocht

Bij een allogene transplantatie zijn de stamcellen afkomstig van een verwante of onverwante donor. De donor moet een HLA-typering hebben die overeenkomt met die van de patiënt. Die typering wordt gedaan door het HLA-laboratorium van Sanquin. Manager Junior Lardy: “Er zijn tien genetische hoofdstructuren met daaronder heel veel substructuren. We willen op die tien hoofdstructuren een match. Hoe beter die is, hoe minder kans op graft-versus-hostziekte (omgekeerde afstootreactie). Een typering duurt 5 tot 7 werkdagen, we verrichten honderden typeringen per jaar. Bij Kaukasische patiënten lukt het in 95 procent van de gevallen om een match te vinden. Voor niet-Kaukasische patiënten is het veel moeilijker, omdat er in die groep minder stamceldonors zijn. Daar is de slagingskans tien tot twintig procent.”

Het HLA-lab onderzoekt eerst of er een match is met een familielid. Als die er niet is, zoekt men naar een geschikte onbekende match in het wereldwijde bestand van stamcel-donors, het *bone marrow worldwide donor*-bestand (BMWD). Dit BMWD-bestand wordt vanuit Nederland door de organisatie Matchis beheerd.

Als in dit bestand ook geen match wordt gevonden, kunnen stamcellen uit navelstrengbloed worden gebruikt. Deze stamcellen zijn ‘naïever’, ze hebben een minder uitgesproken HLA-typering, waardoor ze makkelijker te matchen zijn. Na-deel is dat één navelstreng relatief weinig stamcellen bevat, waardoor er voor volwassenen meestal twee navelstreng-bloed-stamcelproducten worden gepoold.

Een andere, vrij nieuwe manier om geschikte stamcellen te vinden is via de haplo-identieke match. Daarbij zoek je een donor die maar op vijf van de tien kenmerken hoeft te matchen. Zeerleder: “We zijn inmiddels in staat om het immuunsysteem dusdanig effectief te onderdrukken dat

een beperktere match mogelijk is. Dat vergroot het aantal mogelijk geschikte donors: binnen de eigen familie kunnen ouders, grootouders of kinderen ook een match zijn.”

### Afname

Het Bijzondere Afname Team (BAT) van Sanquin verricht bijzondere afnames. In verschillende ziekenhuizen neemt het BAT stamcellen af van patiënten en familieleden van patiënten. Hoofd Marian Klijn Velderman: “Ons team staat 24/7 paraat, voor therapeutische afereses en cellulaire afnames. De cellulaire afnames waarbij we stamcellen afnemen vormen een groot deel van ons werk: we voeren die jaarlijks zo’n 450 keer uit. In vijf ziekenhuizen, waaronder het Prinses Maxima Centrum voor kinderoncologie, zijn wij met ons ‘Collection Facility Team’ JACIE-geaccrediteerd voor het afnamegedeelte binnen de stamcelketen.”

### Bewerking en opslag

Sanquins Laboratorium voor Celtherapie in Amsterdam is betrokken bij het bewerken en opslaan van stamcellen voor transplantatie. Carlijn Voermans, hoofd van het lab: “Allogene stamcellen moeten binnen 72 uur aan de patiënt worden gegeven. Bij autologe transplantatie vriezen we de stamcellen van de patiënt zelf in (cryopreserveren), aangezien er dan meer tijd tussen afname en toediening zit en de cellen niet zo lang goed blijven.”

Sanquins Laboratorium Immunocytologie ontvangt een monster van het stamceltransplantaat om de kwaliteit te controleren. Homburg: “Met de flowcytometer tellen we hoeveel stamcellen per microliter er in het monster zitten. Dat geven we door aan het Laboratorium voor Celtherapie.” Voermans: “Wij bepalen in overleg met de arts of een transplantaat voldoende stamcellen bevat voor de patiënt, afhankelijk van diens lichaamsgewicht. Ook bewerken we de stamcelpreparaten, we wassen de antistoffen weg of vriezen de cellen in. In totaal bewerken we zo’n 200 stamceltransplantaten per jaar. Zeventig procent daarvan is autoloog, dertig procent allogeen. Onze capaciteit ligt overigens nog hoger.”

De patiënt ontvangt via een infuus de stamcellen, die zich binnen enkele uren nestelen in het leeggemaakte beenmerg. Toediening van bevroren stamcellen gebeurt samen met medewerkers van het Laboratorium voor Celtherapie. Voermans: “Het ontdooien doen wij zelf aan het ziekenhuisbed. Binnen vijftien tot dertig minuten na ontdooiing moet het transplantaat worden toegediend.”

### Graft-versus-hostziekte

Ondanks alle voorzorg ontwikkelt toch vijftig procent van de patiënten na een allogene stamceltransplantatie in meer of mindere mate graft-versus-host-ziekte. Ook ontwikkelen

veel patiënten bloedarmoede. Zeerleder: “Een allogene stamceltransplantatie is een heel pittige behandeling voor de patiënt. Het nieuwe immuunsysteem moet leren onderscheid te maken tussen de leukemiecellen en lichaamseigen cellen van huid, lever, darmen. Als het té actief wordt, krijgt de patiënt graft-versus-host-ziekte. In heel ernstige gevallen, zo’n twintig procent, is dat ernstig en kan het zelfs levensbedreigend zijn. Daarom onderdrukken we het immuunsysteem tijdens de eerste maanden na transplantatie, zodat het kan ‘oefenen’ met het herkennen van lichaamseigen en vreemde cellen. Tijdens deze periode is de patiënt vatbaar voor allerlei infecties. Het is een heel delicate balans die we zoeken. De effectiviteit van immuunsuppressie kunnen we volgen met het immunomonitoringplatform, dat is opgezet door Sanquins Laboratorium Immunocytologie. Zij kunnen met flowcytometrie het immuunsysteem van een patiënt monitoren en nagaan welke celpopulaties van het immuunsysteem meer of minder actief zijn. Voor het volgen van graft-versus-host-ziekte staat dit nog in de kinderschoenen, maar het gaat in de toekomst een belangrijke rol spelen bij stamceltransplantaties. Bovendien is dit platform van grote waarde bij klinische studies om het effect van een nieuw geneesmiddel op het immuunsysteem te bestuderen. Ten slotte levert deze monitoring ook veel informatie bij het toepassen van immuunmodulatoire behandelingen bij solide tumoren.”

#### ATMP's

Zeerleder werkt bij de behandeling van graft-versus-host-ziekte wederom nauw samen met Sanquins Laboratorium voor Celtherapie. Dat bewerkt namelijk niet alleen de reguliere stamcellen, maar produceert sinds een aantal jaren ATMP's (*advanced therapeutic medicinal products*). Zeerleder: “Bijvoorbeeld mesenchymale stromale cellen, die we nu in een trial aan patiënten met graft-versus-host-ziekte toedienen als het niet goed lukt het immuunsysteem te onderdrukken.”

“Ons doel is om steeds meer patiënten te kunnen behandelen”, zegt Voermans. “Wij hebben jarenlange ervaring met het bewerken van gewone stamcelproducten – ons lab bestaat al sinds 1979 – dus de stap naar het produceren van ATMP's was voor ons niet groot. We zijn eerst, in samenwerking met het LUMC, begonnen met de mesenchymale stromale cellen, de MSC's. Die zijn in heel kleine aantallen in het beenmerg aanwezig, dus we moeten ze een aantal weken opkweken. In trialverband wordt nu onderzocht hoe goed ze werken bij graft-versus-host, als mensen niet goed reageren op de gebruikelijke medicatie.”

Het tweede ATMP dat het lab produceert is TIL, tumor infiltrerende lymfocyten. Daarbij worden eigen afweercellen ingezet om melanomen te bestrijden. Voermans: “De TIL-

therapie is opgestart door het Antoni van Leeuwenhoek Ziekenhuis. Wij zijn hun tweede productielab. We hebben ook nog een samenwerking met het Radboudumc in Nijmegen. Voor hen gaan we dendritische cellen kweken, die ook tegen melanomen worden ingezet maar dan in een ander stadium van kanker.”

Het Bijzondere Afname Team van Sanquin Bloedbank ondersteunt daarin door dendritische voorlopercellen bij patiënten af te nemen. Verder loopt er op het lab een project om buiten het lichaam rode bloedcellen te kunnen produceren. “Dit zit nog niet in de trialfase maar dat gaat er wel aankomen. Het is een belangrijke ontwikkeling voor patiënten die veel transfusies nodig hebben. Die kun je dan transfunderen met hun eigen gekweekte rode bloedcellen.”

Last but not least is het lab betrokken bij de productie van CAR-T-cellen. Dit zijn T-cellen die buiten het lichaam genetisch gemodificeerd worden zodat ze daarna de leukemiecellen aanvallen. “Die modificatie gebeurt door twee farmaceutische bedrijven”, zegt Voermans. “Maar wij regelen een groot deel van het logistieke proces. Er komt heel veel bij kijken om die cellen naar een ander land te sturen en weer terug te krijgen. Daar hebben wij onder andere een groothandelsvergunning voor.” ATMP's zijn celproducten met een geneesmiddelenstatus, en daarmee zijn deze nog veel strikter gereguleerd dan stamceltransplantaten. Voermans: “Je hebt er andere laboratoria voor nodig. En die hebben wij hier bij Sanquin. We hebben enorm geïnvesteerd in de infrastructuur, bovendien werken er zeer gespecialiseerde mensen in het lab, elk met hun eigen aandachtsveld.”

#### Bloedtransfusies

Een ander onderdeel van de behandeling waarbij Sanquins expertise een cruciale rol speelt, zijn de bloedtransfusies tijdens de zware chemotherapie en na de stamceltransplantatie. Ten eerste is er de levering van ‘gewone’ bloedproducten. Marian van Kraaij, unitdirecteur Donorzaken en Transfusie-geneeskunde: “Door de behandeling met chemotherapie en/of stamceltransplantatie worden er tijdelijk geen rode bloedcellen, bloedplaatjes en witte bloedcellen aangemaakt en heeft de patiënt ter overbrugging rode bloedcellen en bloedplaatjes van donors nodig. Die zijn beschikbaar dankzij de ruim 340.000 donors die bij Sanquin bloed doneren. Overigens gaat maar liefst dertig procent van alle gedoneerde rode bloedcellen naar kankerpatiënten.”

Helaas ontwikkelen patiënten soms afweerreacties tegen de ontvangen bloedproducten. Als dat het geval is, wordt de hulp ingeschakeld van Sanquins Laboratorium Erythrocytenserologie. “Wij doen extra typering om alle bloedgroepkenmerken weer opnieuw vast te stellen”, zegt Masja de Haas, Clustermanager Immunohematologische Diagnostiek bij Sanquin. “Bij stamceltransplantaties gebeurt het wel

eens dat er een afweerreactie optreedt waarbij het immuunsysteem ontregeld raakt en er heel veel antistoffen worden aangemaakt. Maar het is moeilijk te bepalen waartegen die antistoffen gericht zijn. Tegen de donorerythrocyten? Tegen de eigen erythrocyten die eventueel nog gevormd worden in het beenmerg? Verder kijken we naar het type antistoffen. Zijn het hemolyserende antistoffen, die de rode bloedcellen heel snel afbreken? Of verergeren ze ook de ontstekingsreacties? Dat zijn belangrijke vragen om de behandeling op aan te passen en heel gerichte medicatie te geven. Daarnaast kunnen er antistoffen tegen donorbloedplaatjes worden gevormd, gericht tegen HLA of bloedplaatjesantigenen. Op onze laboratoria doen we daar ook onderzoek naar, om een geschikte donor te vinden.”

DNA-diagnostiek speelt ook bij de bloedgroepbepaling een belangrijke rol. De Haas: “Op een gegeven moment zit er in de patiënt een mengsel van eigen bloedcellen van vóór de stamceltransplantatie, bloedcellen van de stamcel donor en dan óók nog van de ‘gewone’ bloeddonor. Je hebt dan een uitgebreide DNA-analyse nodig om te kunnen vaststellen wat de bloedgroepkenmerken van de patiënt zijn. Op ons laboratorium kunnen wij dat met een uitgebreide test voor een breed scala aan bloedgroepen. Het is al met al zeer complexe diagnostiek, maar omdat wij – als enig lab in Nederland – deze test dagelijks uitvoeren, kunnen wij dat snel en hebben we er inmiddels ook een grote expertise in opgebouwd.”

Er is nog een rol weggelegd voor Sanquin Plasma Products: sommige patiënten ontvangen na de chemotherapie intraveneus immunoglobuline, antistoffen uit donorplasma. Die creëren tijdelijk een kunstmatig immuunsysteem als het eigen afweersysteem door de chemo is platgelegd. Sanquin produceert deze immunoglobulines ook.

### Research

Ten slotte speelt Sanquin ook een grote rol in wetenschappelijk onderzoek naar de optimale behandeling van leukemie. Zo verrichten Zeerleder en Voermans samen onderzoek naar graft-versus-hostziekte. Dit gebeurt in nauwe samenwerking met het AMC en de daar gevestigde onderzoeksgroepen.

Voermans is ook groepsleider binnen de onderzoeksafdeling Hematopoiese van Sanquin. “Wij bestuderen de interactie tussen de bloedvormende stamcellen en de mesenchymale stromale cellen, de MSC's. Die helpen de bloedvormende stamcellen, maar er zitten grote verschillen tussen: sommige zijn goed in het ondersteunen van de bloedaanmaak, andere beïnvloeden het immuunsysteem. Door dit soort processen in gezond beenmerg te begrijpen, kunnen we ook beter ingrijpen in ziek beenmerg.”

Voermans onderzoekscollega Martijn Nolte is hoofd van het Adaptive Immunity Laboratorium. Dit lab doet onderzoek

naar de invloed van het immuunsysteem op de aanmaak van bloedcellen. Nolte: “Dat lijken twee gescheiden werelden, maar het blijkt dat veel beenmergcellen gevoelig zijn voor activatie van het immuunsysteem. We onderzoeken bijvoorbeeld of je bij stamceltransplantaties de kracht van de T-cellen kunt gebruiken om de transplantatie beter te laten aanslaan.”

Het is de synergie tussen dit soort onderzoek, dat Sanquin uitvoert bij alle stappen in de behandeling, de gespecialiseerde moleculaire diagnostiek en de geavanceerde productie-faciliteiten voor ATMP's, die Sanquin maken tot een belangrijke speler bij de behandeling van leukemieën.