

Summary

Oudshoorn M, Doxiadis IIN, Allebes WA. HLA matching depending on organ, tissue or function. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2009; 34: 12-17.

Matching for hematopoietic stem-cell transplantation is looking for an HLA-identical sibling donor. The chance of finding such a donor is about 25%. If no such donor is available, the search for a suitable stem-cell donor is extended to the worldwide stem-cell donor file (Bone Marrow Donors Worldwide, BMDW). Finding a suitable stem-cell donor outside the family is dependent on the patient's own HLA-type, whether it is a common or rare combination of HLA-alleles. If it is not possible

to find an identical donor, one could be urged to look for a second best HLA-mismatched option. Statistically, acceptability of single HLA-locus dependent mismatches has been demonstrated. Functional immunoassays, such as a CTLp assay, may indicate acceptable HLA-class I mismatches. Finding HLA-class II acceptable mismatches by functional immunoassay is not that simple.

In organ transplantation, the aim is to transplant with HLA-identical organs or compatible whenever possible, besides an obligatory blood-group (ABO) compatibility. This aim holds despite the fact that more adequate immunosuppressive drugs have become available, which are largely capable to suppress organ rejection and resulting in excellent graft survival.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 17-22

Detectie en klinische relevantie van HLA-antistoffen

W.A. ALLEBES¹ en F.H.J. CLAAS²

De aanwezigheid van donorspecifieke antistoffen kan leiden tot transplantaatverlies. Aangezien er bloedgroep-compatibel wordt getransplanteerd, zijn met name antistoffen gericht tegen de HLA-antigenen van de donor klinisch relevant. Indien deze al aanwezig zijn op het moment van transplantatie, kan dit resulteren in een hyperacute afstoting, waardoor een kostbaar orgaan verloren gaat. Om een dergelijke afstoting te voorkomen wordt voorafgaande aan een transplantatie een kruisproef gedaan met serum van de ontvanger en lymfocyten van de donor. Tevens wordt elke patiënt periodiek onderzocht op de vorming van antistoffen tegen HLA om met deze kennis te voorkomen dat organen met HLA-antigenen waartegen antistoffen zijn aangetoond ten onrechte worden aangeboden. Dit voorkomt onnodig tijdverlies bij de orgaantransplantatieprocedure. Voor de detectie en identificatie van antistoffen tegen HLA zijn in de loop der tijd een aantal technieken ontwikkeld. De 'cell based complement-dependent cytotoxicity' (CDC), waarvan de klinische relevantie duidelijk is vastgesteld, en de meer gevoelige 'solid phase'-gebaseerde technieken, waarvan de Luminex-technologie een veelbelovende techniek is, maar waarvan de klinische relevantie nog niet duidelijk is. Beide technieken vormen tegenwoordig steeds meer een basis voor het antistofonderzoek in de Nederlandse weefseltyperingslaboratoria, met name in patiënten met heel veel verschillende HLA-antistoffen.

In tegenstelling tot de antistoffen gericht tegen de ABO-bloedgroepen, zijn antilichamen gericht tegen de HLA-antigenen niet van nature aanwezig in serum. HLA-antistoffen worden pas geïnduceerd na confrontatie van het immuunsysteem met cellen afkomstig van een individu met andere HLA-antigenen. De enige natuurlijke wijze waarop men in contact komt met vreemde HLA-antigenen is via de zwangerschap. Ongeveer 30% van de vrouwen maakt tijdens en vlak na de zwangerschap antistoffen gericht tegen de HLA-antigenen die het kind van de vader heeft geërfd. HLA-antistoffen kunnen verder opgewekt worden door bloedtransfusies en door transplantaties. Wanneer donorspecifieke HLA-antistoffen aanwezig zijn in het serum van een patiënt vóór een niertransplantatie, zal de betreffende transplantatie vaak resulteren in hyperacute afstoting van het donororgaan (1). Dat is dan ook de reden waarom er routinematig een serologische kruisproef verricht wordt, gebruikmakend van het serum van de patiënt en witte bloedcellen van de toekomstige donor. Indien deze kruisproef positief is, wordt dat beschouwd als een contra-indicatie voor transplantatie. Sinds de introductie van een dergelijke serologische kruisproef treedt er nog maar incidenteel een hyperacute afstoting op. Men kan ook voorkomen dat dergelijke positieve kruisproeven gevonden worden door bij voorbaat sera van alle patiënten, die in aanmerking komen voor een transplantatie, regelmatig te screenen op de aanwezigheid en specificiteit van HLA-antistoffen. Op deze wijze kan men de HLA-antigenen in kaart brengen waartegen een patiënt antistoffen gevormd heeft en kan men voorkomen dat donoren met deze HLA-antigenen geselecteerd worden voor deze patiënten. Van deze systematiek wordt routinematig gebruik gemaakt binnen de orgaanuitwisselingsorganisatie Eurotransplant. Het klinisch belang van deze HLA-antistoffen was tot voor kort altijd gebaseerd op een standaard laboratoriumtechniek, de zogenaamde

UMC St. Radboud, Afdeling Bloedtransfusie en Transplantatie Immunologie, Nijmegen¹ en Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC), Afdeling Immunohematologie en Bloedtransfusie, Leiden²

Correspondentie: dr. W.A. Allebes, UMC St. Radboud, Afdeling Bloedtransfusie en Transplantatie Immunologie, 469 ABTI, Geert Grooteplein 10 6525 GA Nijmegen
E-mail: w.allebes@abti.umcn.nl

CDC (complement-dependent cytotoxicity)-test. De laatste jaren is er echter een aantal nieuwe testen op de markt gekomen, die veel gevoeliger zijn dan deze CDC-test, maar de klinische relevantie van de antistoffen die met deze gevoelige testen gevonden worden is niet eenduidig (2). Het dogma dat de aanwezigheid van donorspecifieke HLA-antistoffen een contra-indicatie voor transplantatie is houdt geen stand meer als de resultaten van deze nieuwe testen in oogmerk worden genomen (3). Toch kan er gesteld worden dat de aanwezigheid van HLA-antistoffen, ongeacht de techniek die gebruikt wordt, een risicofactor is wat betreft de functie en overleving van het transplantaat. Het is daarom essentieel dat een HLA-laboratorium naast de standaard CDC-techniek ook een of meer van deze nieuwere technieken beschikbaar heeft om het volledige antilichaamprofiel van een patiënt in kaart te brengen.

Identificatie van antistoffen tegen HLA

In de loop der tijd zijn verschillende technieken ontwikkeld ter detectie en identificatie van antistoffen tegen HLA (4). De technieken verschillen in sensitiviteit, discriminerend vermogen, snelheid, gemak, materiaalverbruik en kosten. Uiteindelijk dienen die antistoffen te worden aangetoond die klinisch relevant zijn en dus leiden tot schade aan het transplantaat, vaak ten gevolge van een antistof-gemedieerde transplantatafstoting of rejectie. De weefseltyperingslaboratoria gebruiken bij de identificatie van antistoffen in ieder geval altijd dezelfde techniek, die ook bij een donor-ontvangerkruisproef gebruikt wordt. Dit wordt geëist door de European Federation for Immunogenetics (EFI) en door Eurotransplant om als laboratorium geaccrediteerd te worden voor het verrichten transplantatiegerelateerde analyses.

De volgende uitleessystemen worden, in varianten, het meest gebruikt: 'complement-dependent cytotoxicity' (CDC), immunofluorescentie en ELISA. Men

kan gebruik maken van 'cell based' technieken en 'solid phase based' technieken. Een beknopt overzicht staat weergegeven in tabel 1. In dit artikel zal ingegaan worden op de oudste techniek (CDC) en één van de veel belovende nieuwere technieken, de Luminex techniek.

Complement-dependent cytotoxicity

De identificatie van antistoffen tegen HLA, via CDC, is een pure 'cell based' techniek en bestaat uit kruisproeven van een patiëntenserum met een panel van lymfocyten van HLA-getypeerde individuen. Indien antistoffen HLA-antigenen op de lymfocyten herkennen binden ze, en na toevoeging van konijncomplement kan het complement geactiveerd worden. Complementactivatie leidt tot vorming van het 'membrane attack complex' (MAC), resulterend in celdood. Celdood kan vervolgens via specifieke kleuring zichtbaar gemaakt worden en met behulp van de microscoop worden vastgesteld (figuur 1).

Door gebruik te maken van een panel van HLA-getypeerde lymfocyten kan vastgesteld worden met welke HLA antigenen de antistoffen in het serum van een patiënt reageren en, zeker zo belangrijk, met welke HLA-antigenen de antistoffen niet reageren (tabel 2). Het laatste is met name van belang bij het onderzoek naar acceptabele HLA-antigenen bij hoog-geïmmuniseerde patiënten. De CDC-techniek heeft een aantal nadelen, zoals de afhankelijkheid van levende lymfocyten, arbeidsintensieve kwaliteitscontroles op de reagentia zoals complement, positieve en negatieve controles en de subjectiviteit van het uitlezen. Ondanks deze nadelen is de CDC wereldwijd geaccepteerd als een test met klinische relevantie, i.e. indien de CDC-kruisproef negatief is zal er geen hyperacute afstoting optreden, indien de CDC-kruisproef positief is en toe te schrijven aan cytotoxische antistoffen tegen donor-HLA, leidt dit meestal tot afstoting van het transplantaat (5). Zijn de antistoffen aanwezig op het moment van transplantatie

Tabel 1. Antistofdetectie en -identificatietechnieken

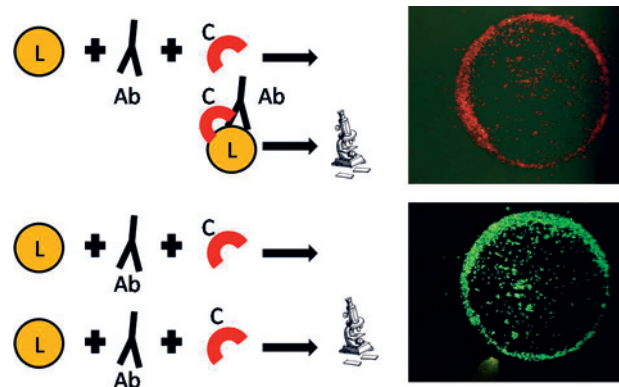
HLA-drager	Varianten	Antigeensamenstelling	Uitleessysteem	Antistofdetectie
Lymfocyten	T-lymfocyten	HLA-A+B Cw + <i>niet</i> -HLA	1) CDC 2) Immunofluorescentie (flowcytometrie)	Complementbindende antistoffen (IgG _{1,3} , IgM) Conjugaatafhankelijk (IgG _{1,2,3,4} , IgM)
	B-lymfocyten	HLA-A+B+Cw+DP+DQ+DR + <i>niet</i> HLA	1) CDC 2) Immunofluorescentie (flowcytometrie)	Complementbindende antistoffen (IgG _{1,3} , IgM) Conjugaatafhankelijk (IgG _{1,2,3,4} , IgM)
'Solid phase'	Microtiterplaat	HLA-A,-B,-Cw HLA-A,B,Cw,DP,DQ,DR Enkelvoudige antigeendetectie mogelijk	1) ELISA	Conjugaatafhankelijk (IgG _{1,2,3,4} , IgM)
	Partikels, 'beads'	HLA-A,B,Cw HLA-A,B,Cw,DP,DQ,DR Enkelvoudige antigeendetectie mogelijk	2) Immunofluorescentie (Luminex)	Conjugaatafhankelijk (IgG _{1,2,3,4} , IgM)

De 'cell based' technieken hebben een matig discriminerend vermogen, immers T-lymfocyten brengen alle HLA-klasse-I-kenmerken A, B en Cw tot expressie en B-lymfocyten daarnaast ook de HLA-klasse-II-kenmerken DP, DQ en DR. De 'solid phase based'-technieken hebben een hoog discriminerend vermogen.

dan zal dit leiden tot een antistof-gemedieerde hyperacute afstoting. Indien de antistofreactiviteit aangetoond wordt in historische sera en niet in het serum op moment van transplantatie, dan leidt dat weliswaar niet tot hyperacute antistof-gemedieerde afstoting, maar in minstens 50% van de gevallen bij niertransplantatie toch tot orgaanverlies binnen een jaar (6).

Luminex

De vraag om een robuuster test systeem is er al heel lang. Met de introductie van het Luminex-systeem ligt dit binnen handbereik. Het Luminex-systeem heeft het gemak van de ELISA en de flexibiliteit en de gevoeligheid van de flowcytometrie, zie figuren 2A-C. In combinatie met de mogelijkheid om via getransfekteerde cellijnen pure HLA-moleculen van een enkel allel in handen te krijgen is dit een techniek met hoog discriminerend vermogen en sensitiviteit. Met deze 'Luminex Single Antigen' techniek (LSA) is in een serum van een patiënt met antistoffen tegen HLA vast te stellen tegen welke HLA-moleculen, op allelniveau, de reactiviteit gericht is. Tevens kan door keuze van het conjugaat vastgesteld worden welk Ig-isotype en/of subklasse de reactieve antistoffen hebben (7). Een directe correlatie met de kliniek is niet aangetoond. Inmiddels komen wel gegevens beschikbaar waaruit blijkt dat de gevoelige Luminex-techniek reële antistoffen detecteert, maar niet noodzakelijkerwijs antistoffen die een schadelijk effect zullen hebben indien ze met een transplantaat reageren. Deze bevindingen roepen heel veel vragen op. Terugvallen op de zekerheid die de CDC-test geeft lijkt vooralsnog het enige zinvolle alternatief.



Figuur 1. Principe van complement-dependent cytotoxicity. Lymfocyten (L) worden geïncubeerd met patiëntenserum (Ab), daarop volgt een toevoeging van konijncomplement (C) en wederom een incubatie. Bij binding vindt complementactivatie plaats en vorming van MAC en celdood kan, na kleuring met propidiumiodide, onder de microscoop worden vastgesteld (a). Indien geen binding van antistoffen plaatsvindt, vindt ook geen complementactivatie plaats. Dit wordt, via een viabiliteitskleuring met carboxyfluorodiacetaat onder de microscoop zichtbaar (b).

Onderstaande casus is exemplarisch voor de verschillen en valkuilen die bij een gelijktijdig gebruik van de 2 analyse systemen zijn waar te nemen (tabel 3).

In de CDC-analyse worden alleen cytotoxische antistoffen gedetecteerd in dit geval tegen HLA-A2, A68 en A69. In de Luminex-analyse detecteren we geen antistoffen tegen HLA-A2 maar naast antistoffen tegen HLA-A68 en A69 een groot aantal antistoffen tegen andere allelen. De antistoffen tegen HLA-A2 wor-

Tabel 2. Principe van antistofidentificatie middels een HLA-getypeerd celpanel

Lymfocyt-kenmerken	Reactie met						HLA-specificiteit antistoffen*
	A1 B8	A3 B8	A1 A2 B7 B44	A2 A3 B7B35	A1 A3 B44	A2 B8 B44	
Serum 1	+	+	-	-	-	+	B8
Serum 2	+	-	+	-	+	-	A1
Serum 3	-	+	-	+	+	-	A3 (B35?)
Serum 4	+	+	+	-	+	+	A1+ B8 (B44?)

*Antistoffen tegen HLA-kenmerken die niet in het panel zitten kunnen niet worden aangetoond, maar ook niet worden uitgesloten! Door een celpanel te gebruiken van lymfocyten met verschillende HLA-kenmerken kan de reactiviteit van antistoffen geïdentificeerd worden. Aangezien er een groot aantal verschillende HLA-kenmerken bestaat wordt meestal gebruik gemaakt van een panel bestaande uit 60 verschillende lymfocytensuspensies, waarbij gelet wordt op de diversiteit van de HLA-kenmerken en het discriminerend vermogen.

Tabel 3. Vergelijking van CDC- en Luminex-antistofdetectie

HLA-klasse-I-typering patiënt A32 B38 B61 Cw2	CDC-antistofdetectie	Luminex-antistofdetectie
Serum patiënt onverdund	A2, A68, A69	A3, A11, A23, A24, A29, A30, A31, A33, A34, A66, A68, A69, B62, B63, B72, B75, B77, B35, B49, B50, B51, B52, B53, B56, B57, B58, B78
Serum patiënt (1:10)		A2, A3, A11, A23, A24, A29, A30, A31, A33, A34, A66, A68, A69, B62, B63, B72, B75, B77, B35, B49, B50, B51, B52, B53, B56, B57, B58, B78

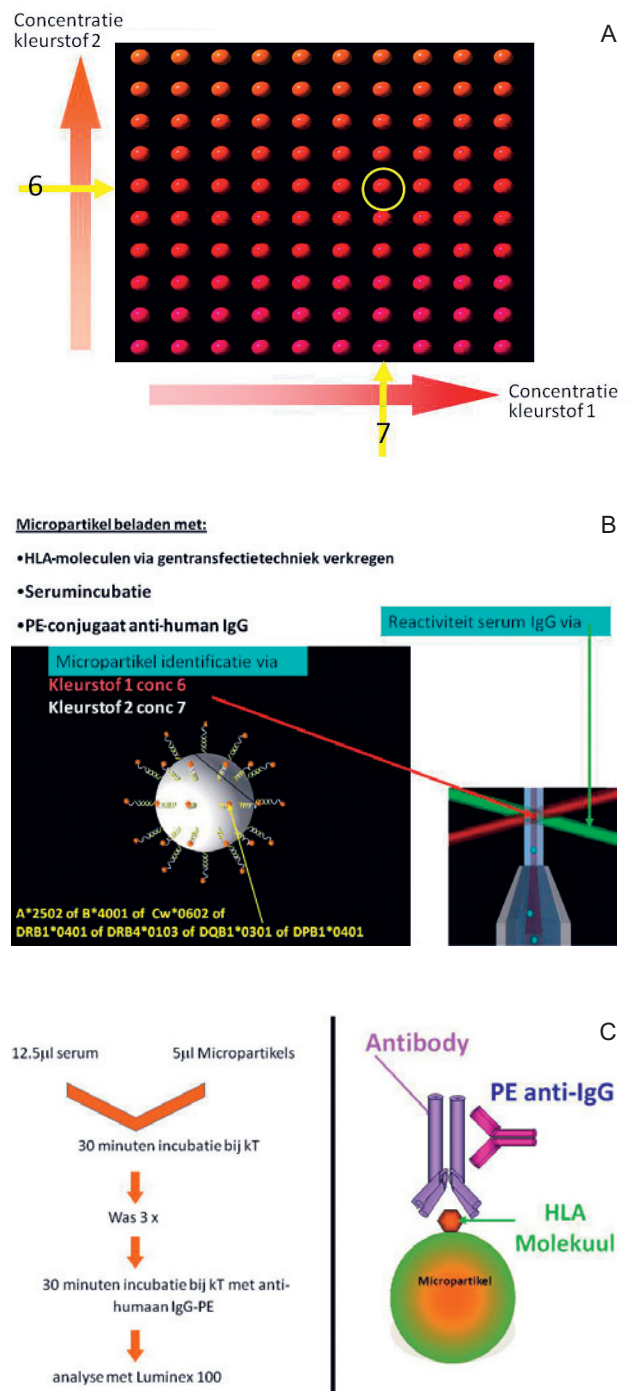
Via de CDC zijn in het serum van patiënt alleen cytotoxische antistoffen tegen HLA-A2, -A68 en -A69 gedetecteerd. Via de Luminex-analyse zijn IgG-antistoffen gedetecteerd tegen een groot aantal HLA-kenmerken op het A-locus en op het B-locus. Opmerkelijk is dat in de Luminex-analyse van het onverdunde serum de antistof tegen HLA-A2 volledig wordt gemist. De antistof wordt wel gedetecteerd in het 1:10 verdunde serum, waarschijnlijk vanwege een prozone-effect bij de antistoffen tegen HLA-A2. Deze waarneming is op twee sera van verschillende afnames bij herhaling gevonden.

den wel bij een verdunning van 1:10 aangetoond. Een simpele verklaring voor deze bevinding is dat de CDC veel minder gevoelig is in de detectie, waardoor alleen antistoffen tegen HLA-A2, -A68 en -A69 aantoonbaar zijn. De antistoffen tegen HLA-A2 zijn qua titer zo sterk dat ze onverdund in de Luminex vanwege een prozone-effect niet worden gedetecteerd, maar bij een verdunning 1:10 wel.

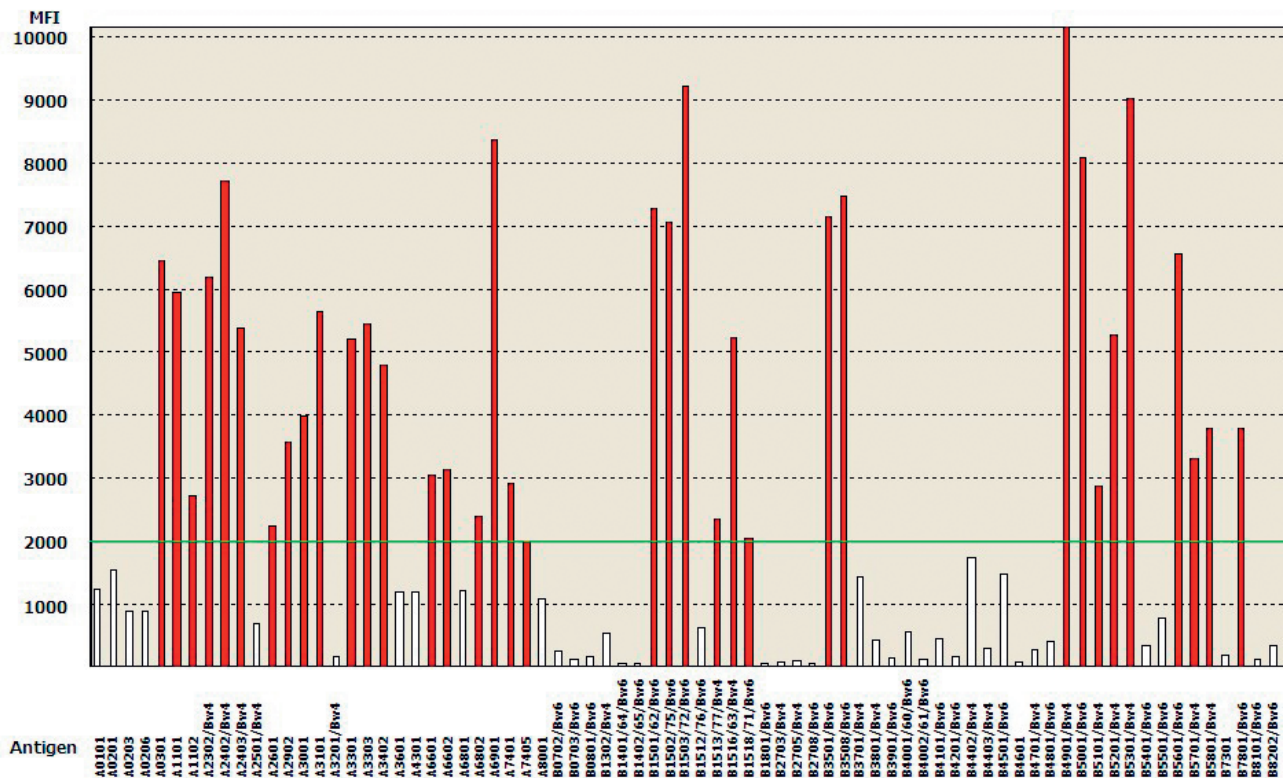
De Luminex-detectie is gebaseerd op binding en niet op een biologisch uitleessysteem als complement-activatie. Tot nu toe zijn alle geïmmuniseerde patiënten getransplanteerd op basis van een negatieve CDC-kruisproef. Dit heeft, althans in Nederland, nooit geleid tot een hyperacute resectie. Er worden wel antistofgeïmmuniseerde acute resecties gemeld, welke grotendeels behandelbaar zijn en een langdurige transplantaat-overleving niet in de weg staan, daarnaast treedt er een enkele keer een transplantaatverlies op. In de recente literatuur, vaak aan de hand van casuïstiek, wordt de detectie van deze antistoffen in verband gebracht met transplantaatverlies (8, 9). Een goede inventarisatie van de incidentie heeft niet plaatsgevonden. Wellicht dat onlangs gestarte studies, gericht op de nadere definitie van de titer en antilichaamsklasse van de niet-complementfixerende HLA-antistoffen, kunnen verduidelijken welke Luminex-detecteerbare antistoffen wel en welke niet klinisch relevant zijn. De praktijk leert ons dat we via een CDC-kruisproef hyperacute resecties kunnen voorkomen en dat transplantatie in de aanwezigheid van donorspecifieke antistoffen mogelijk is gezien het frequente voorkomen van CDC-negatieve Luminex-positieve antistoffen en het gegeven dat in Nederland de éénjaarsoverleving van hoog-geïmmuniseerde patiënten gelijk is aan die van niet-geïmmuniseerde patiënten. We kunnen derhalve de vraag stellen in hoeverre deze nieuwe zeer gevoelige techniek ons helpt in de praktijk. Voor het aantonen van klinisch relevante antistoffen is de huidige Luminex-methode wellicht te gevoelig, maar de methode is daarentegen uitermate geschikt om vast te stellen, tegen welke HLA-antigenen een patiënt geen antistoffen heeft gevormd. Dit laatste is van groot belang bij het vinden van acceptabele HLA-mismatches bij transplantatieren voor hoog-geïmmuniseerde patiënten.

Transplantatie bij hoog-geïmmuniseerde patiënten

Een speciale categorie van patiënten op de wachtlijst is de groep patiënten die heel veel antistoffen heeft gemaakt tegen vreemde HLA-antigenen, de zogenaamde hoog-geïmmuniseerde patiënten. Bij hen geeft een serologische kruisproef met bijna iedere potentiële donor een positieve uitslag. Dat betekent dat transplantatie niet kan plaatsvinden. De aanwezigheid van donorspecifieke antilichamen leidt immers tot onmiddellijke afstoting. Hoog-geïmmuniseerde patiënten zullen dus heel lang op een geschikte nier moeten wachten. Op initiatief van de HLA-laboratoria in Nederland zijn er echter specifieke maatregelen genomen om de kans op transplantatie voor deze patiëntengroep te verhogen. Standaard wordt bij alle patiënten bepaald tegen welke



Figuur 2. A: Tweekleurenidentificatie van de Luminex-micropartikels. De micropartikels worden geïdentificeerd aan de hand van hun specifieke kleurcode zoals in figuur 2A aangegeven: code kleur 1, concentratie 6 en kleur 2, concentratie 7. Op deze wijze kun je in een partikelsuspensie 100 verschillende items tegelijk onderzoeken. B: Identificatie van de antistof-reactieve micropartikels. Voor de HLA-single-antigenanalyse worden micropartikels beladen met zuivere HLA-moleculen van een enkel allel (single antigen), het HLA-molecuul wordt gekenmerkt door de kleurcode. C: De Luminex-testprocedure. Vervolgens wordt serum van een patiënt met een partikelsuspensie geïncubeerd en worden de reactieve antistoffen gedetecteerd met een Phycoerythrine(PE)-gelabeld anti-humaan IgG-conjugaat. De kleurcode wordt geïdentificeerd door Laser I en tegelijkertijd wordt met Laser II de binding van antistoffen aan de HLA-antigenen gedetecteerd en gekwantificeerd.



Figuur 3. Weergave Luminex-single-antigenanalyse. In bovenstaande grafiek staat op de X-as het antigeen op alle niveau weergegeven, voor het A-locus en B-locus de meest frequente allelen. Op de Y-as staat de gemiddelde fluorescentie-intensiteit (MFI) voor minimaal 90 partikels/allel weergegeven. De 'cut-off value' is arbitrair gesteld op een MFI = 2000.

vreemde HLA-antigenen zij antistoffen hebben gemaakt. Dit om te voorkomen dat er een donoraanbod komt waarvan al voorspeld kan worden dat de kruisproef positief zal zijn. Voor hoog-geïmmuniseerde patiënten is er een speciaal programma ontwikkeld dat een omgekeerde benadering heeft. Bij deze patiënten wordt er door middel van uitgebreid laboratoriumonderzoek nagegaan tegen welke vreemde HLA-antigenen deze patiënten geen antistoffen hebben gevormd. Deze informatie wordt opgeslagen in de computer van Eurotransplant. Wanneer er een donoor beschikbaar komt van wie de HLA-typing overeenkomt met de combinatie van de eigen HLA-antigenen van de patiënt en de HLA-antigenen waartegen deze patiënt geen antistoffen heeft gevormd, zal een dergelijke donormier met de hoogste prioriteit naar deze patiënt gaan. De introductie van dit programma heeft het aantal transplantaties bij hoog-geïmmuniseerde patiënten sterk verhoogd. In het verleden had een dergelijke patiënt slechts 18% kans om binnen 2 jaar getransplanteerd te worden, maar nu is die kans opgelopen tot 60% (10). Niet alleen de kans op transplantatie is enorm verhoogd, maar ook de resultaten van deze transplantaties zijn uitstekend. Het blijkt dat overleving van nieren bij deze toch hogere risicogroep identiek is aan transplantatieresultaten bij niet geïmmuniseerde patiënten. Deze van oorsprong Nederlandse benadering wordt nu geleidelijk overgenomen door andere organisaties wereldwijd.

Met name patiënten met antistoffen die detecteerbaar zijn in de CDC-test komen in aanmerking voor dit zogenaamde 'acceptabele mismatch'-programma. Ten eerste omdat van dit type van antistoffen de klinische relevantie duidelijk is aangetoond en ten tweede omdat het aantal hoog-geïmmuniseerde patiënten enorm zal toenemen indien de gevoeligere testen ook in aanmerking worden genomen, waardoor de exclusiviteit van dit programma voor een kleine groep moeilijk te transplanteren patiënten zou verdwijnen. Mocht in de toekomst op basis van analyses gericht op antilichaamsklasse en -titer duidelijk worden dat bepaalde antistoffen aantoonbaar in Luminex een zelfde klinische relevantie hebben, dus een contra-indicatie zijn voor transplantatie, dan zullen de inclusiecriteria voor het acceptabele mismatchprogramma zeker aangepast worden.

Literatuur

1. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive cross-match in kidney transplantation. *N Eng J Med* 1969; 280: 735-739.
2. Gebel HM, Bray RA, Nickerson P. Pre-transplant assessment of donor reactive, HLA specific antibodies in renal transplantation: contra-indication versus risk. *Am J Transplant* 2003; 3: 1488-1500.
3. Claas FHI. HLA antibody testing: a tool to facilitate not to prevent organ transplantation. *Int J Immunogenet* 2008; 35: 275-277.
4. Fuggle SV, Martin S. Tools for Human Leukocyte Antigen antibody detection and their application to transplanting sensitized patients. *Transplantation* 2008; 86: 384-390.

5. Chapman JR, Taylor CJ, Ting A, Morris PJ. Immunoglobulin class and specificity of antibodies causing positive T-cell crossmatches. Relationship to renal transplant outcome. *Transplantation* 1986; 42: 608-613.
6. Hoor GM ten, Coopmans M, Allebes WA. Specificity and Ig class of preformed alloantibodies causing a positive crossmatch in renal transplantation. The implications for graft survival. *Transplantation* 1993; 56: 298-304.
7. Arnold ML, Dechant M, Doxiadis II, Spriewald BM. Prevalence and specificity of immunoglobulin G and immunoglobulin A non-complement-binding anti HLA alloantibodies in retransplant candidates. *Tissue Antigens* 2008; 72: 60-66.
8. Muro M, Llorente S, Marin L, Moya-Quiles MR, Gonzalez-Soriano MJ, Prieto A, Gimeno L, Alvarez-Lopez MR. Acute vascular rejection mediated by HLA antibodies in a cadaveric kidney recipient: discrepancies between FlowPRATM, ELISA and CDC versus luminex screening. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 223-226.
9. Zachary AA, Leffell MS. Detecting and monitoring human leukocyte antigen-specific antibodies. *Hum Immunol* 2008; 69: 591-604.
10. Claas FHJ, Witvliet MD, Duquesnoy RJ, Persijn GG, Doxiadis IIN. The acceptable mismatch program as a fast tool for highly sensitized patients awaiting a cadaveric kidney transplantation: short waiting time and excellent graft outcome. *Transplantation* 2004; 78: 190-193.

Summary

Allebes WA, Claas FHJ. Detection and clinical relevance of HLA antibodies. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2009; 34: 17-22.

Transplant-reactive antibodies may lead to graft loss. Major key players are (pre) formed donor specific HLA antibodies. To prevent such graft loss, a pre transplant cross match is performed with serum of the recipient and lymphocytes of the potential organ donor. Besides, the sera of each patient are screened for the presence of antibodies against HLA periodically in order to prevent allocation of donor organs with HLA-antigens against which the recipient has specific antibodies. This will decrease the incidence of positive cross matches and prevents loss of precious time during an organ-transplantation procedure. During time several techniques have been developed for detection and identification of antibodies against HLA. In the Netherlands, two techniques are used on a regular basis. One of the older techniques, with proven clinical relevance, the cell-based complement dependent cytotoxicity (CDC) and a more sensitive solid phase assay, in particular the one based on Luminex technology. The exact clinical relevance of the latter remains to be established. On basis of the combined use of these techniques, antibody profiles of transplant patients are established, especially in patient with many HLA antibodies, the so called highly sensitized patients.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 22-26

Chimerisme: graadmeter voor het succes van allogene stamceltransplantatie

B.G. HEPKEMA en S.P.M. LEMS

Patiënten die een stamceltransplantatie hebben ondergaan met een niet-myeloablatieve conditioning moeten regelmatig worden gecontroleerd op hun status van het chimerisme. Het maakt niet uit welke techniek hiervoor wordt gebruikt, mits kwantificering mogelijk en reproduceerbaar is. Veranderingen van het chimerisme in de tijd zijn belangrijker dan de uitkomst van een geïsoleerde bepaling. Afname van het donorchimerisme van de T-celfractie kan duiden op 'graft failure' of een recidief van de oorspronkelijke ziekte, terwijl een snelle toename van het donorchimerisme van de T-celfractie vaak samen gaat met 'graft-versus-hostziekte'.

Trefwoorden: chimerisme; stamceltransplantatie; STR

Transplantatie Immunologie, Afdeling Laboratoriumgeneeskunde, Universitair Medisch Centrum Groningen, Postbus 30 001, 9700 RB Groningen

Correspondentie: dr. B.G. Hepkema, Transplantatie Immunologie, Afdeling Laboratoriumgeneeskunde, Universitair Medisch Centrum Groningen, Postbus 30 001, 9700 RB Groningen
E-mail: b.g.hepkema@lc.umcg.nl

Bij een beenmerg- of stamceltransplantatie is het de bedoeling dat het hematopoëtische systeem van de ontvanger vervangen wordt door de cellen van de donor, die gevormd worden door de stamcellen van het transplantaat. Bij een autologe (stamcellen van de patiënt zelf) stamceltransplantatie is het niet mogelijk om onderscheid te maken tussen de oude celpopulatie en de nieuwe cellen, maar bij allogene stamceltransplantatie, waarbij de stamcellen van een ander individu worden gebruikt, bestaat die mogelijkheid er wel. De verschillen tussen de patiënt en de donor kunnen fenotypische verschillen zijn, zoals een verschil in de bloedgroep, maar het meest worden genetische verschillen tussen patiënt en donor gebruikt voor het identificeren en het kwantificeren van de oorsprong van de cellen. Deze bepaling wordt chimerisiebepaling genoemd, naar het vuurspuwende monster in de Griekse mythologie met het lichaam van een geit, de staart van een slang en de kop van een leeuw (figuur 1).

Definities

De definities voor de verschillende vormen van chimerisme zijn vooral gebaseerd op de toepassing bij stamceltransplantatie(1). Met 'volledig donorchimerisme' wordt bedoeld dat het hematopoëtische sys-