

Alleen of toch met twee? Chimerismen in het bloedtransfusielaboratorium

Auteurs H. Russcher, P.C. Ligthart, A.M.E. van Hulst-Sundermeijer, M. de Haas en Y. de Rijke

Trefwoorden bloedgroep, bloedgroepchimerisme, bloedtransfusie, tetragametisch chimerisme

Samenvatting

Er worden 2 casussen beschreven waarbij de bloedgroepbepaling een gemengde celpopulatie, oftewel een zogenaemde mixed-fieldreactie te zien gaf. Een dergelijke reactie, waarbij naast een antigeenpositieve, ook een antigeennegatieve celpopulatie wordt aangetoond, kon niet verklaard worden door een recente bloedtransfusie of stamceltransplantatie. Bij casus 1 was er sprake van een zogenaemd tweelingbloedchi-

merisme dat ontstaan is doordat in een vroege fase tussen 2 foetussen uitwisseling van bloedvormend weefsel heeft plaatsgevonden. Bij casus 2 was er sprake van een tetragametisch chimerisme dat ontstaan is door fusie van 2 genetisch verschillende embryo's die zijn uitgegroeid tot 1 individu.

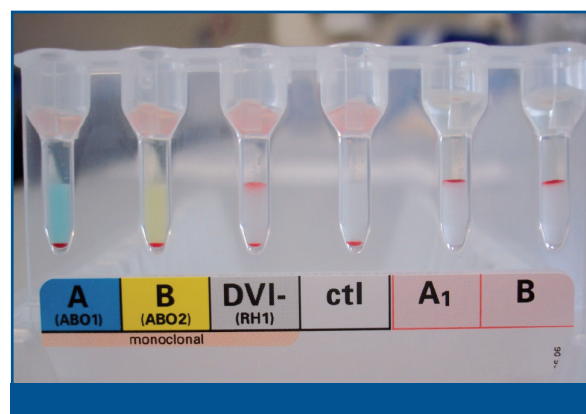
(Tijdschr Bloedtransfusie 2009;2:22-26)

Inleiding

Casus 1

Een jongen van 1 jaar oud, de helft van een dizygote tweeling, werd opgenomen op de intensive care van de kinderchirurgie van het Erasmus MC-Sophia in verband met post-operatieve bewaking na een darmafsluiting, waaraan hij was geopereerd in een ziekenhuis elders. In verband met anemie bij de jongen (Hb 5,6 mmol/l) werd volgens de richtlijn van het Erasmus MC-Sophia door de behandelend arts bij het transfusielaboratorium een eenheid erythrocyten gereserveerd om een eventuele verdere Hb-daling snel te kunnen behandelen. Volgens protocol werd er van 2 onafhankelijk (in tijd en persoon) van elkaar afgenomen bloedmonsters een bloedgroep bepaald en werd gescreend op klinisch relevante irregulaire antistoffen.¹ De antistofscreening was negatief; de 2 volledige bloedgroepbepalingen (antigeen- en antistofbepaling) lieten een bloedgroep O zien. Bij de bepaling van het rhesus-D-antigeen werd echter in de Diamed®-kolom met IgM anti-D een mixed-fieldreactie waargenomen. Dit duidde op de aanwezigheid van zowel een D-positieve als een D-negatieve celpopulatie (zie *Figuur 1*). Omdat de patiënt in de afgelopen 3 maanden geen bloedtrans-

fusie had gehad en ook geen hemato-oncologische voorgeschiedenis had, werd in combinatie met het feit dat het kind de helft van een tweeling is, een bloedchimerisme vermoed, ontstaan tijdens de tweelingzwangerschap. In dat geval zouden de beide kinderen verschillende rhesusbloedgroepen hebben. Hiertoe werd verdere diagnostiek verricht door de afdeling Immuno hematologie Diagnostiek van Sanquin Diagnostiek te Amsterdam. Alleen bij de



Figuur 1. Monoklonale gelkolom van Diamed®, waarin een mixed-fieldreactie waarneembaar is voor het rhesus-D-antigeen met erythrocyten van casus 1.



Tabel 1. Casus 1: antigeenexpressie van erythrocyten (patiënt casus 1 en tweelingbroer).

Antigeen	Casus 1	Tweelingbroer
A	negatief	negatief
B	negatief	negatief
D	'mixed field'	positief
C	'mixed field'	positief
E	negatief	negatief
c	positief	positief
e	positief	positief
K	negatief	negatief
Fy ^a	positief	positief
Fy ^b	negatief	negatief
Jk ^a	positief	positief
Jk ^b	positief	positief
M	positief	positief
N	positief	positief
S	positief	positief
s	positief	positief
Leukocyten DNA-onderzoek		
<i>RHD</i>	aanwezig	
<i>RHC</i>	aanwezig	
Wangslim DNA-onderzoek		
<i>RHD</i>	afwezig	
<i>RHC</i>	afwezig	

D- en C-antigeenbepaling werden gemengde celpopulaties aangetoond. Bij de antigeentypering op de erythrocyten van de gezonde tweelingbroer was geen gemengde celpopulatie aantoonbaar. De antigeentypering van de broers was met uitzondering van het D- en het C-antigeen gelijk (zie Tabel 1). Het DNA-onderzoek naar het *RHD*- en het *RHC*-allel in leukocyten en cellen van het wangslim (niet-hematopoëtisch weefsel) van de patiënt, liet zien dat een *RHD*-allel en een *RHC*-allel aanwezig waren in DNA geïsoleerd uit bloed, maar niet in DNA geïsoleerd uit wangslim. Dit betekent dat het chimerisme ogenschijnlijk beperkt was tot het bloedvormende weefsel.

Casus 2

Bij een routine bloedgroepbepaling van een vrouwelijke nieuwe donor werd, naast een normaal aanwezig A-antigeen, een mixed-fieldreactie waargenomen bij de bepaling van het B-antigeen. De aanwezigheid van een dergelijke gemengde celpopulatie werd ook



Figuur 2. Monoklonale gelkolom van Diamed®, met erythrocytenpopulaties van casus 2 voor (links) en na (rechts) scheiding met anti-D-antistoffen.

aangetoond bij het D-, C-, E-, Jk^b- en s-antigeen. In het serum werden geen anti-A- of anti-B-antistoffen aangetoond. De donor had nooit een bloedtransfusie of stamceltransplantatie ondergaan en was voor zover bekend niet de helft van een tweeling. In vervolgonderzoek werden de 2 erythrocytenpopulaties serologisch van elkaar gescheiden met behulp van anti-B- en anti-D-antistoffen (zie Figuur 2). De grootste populatie (ongeveer 90%) was bloed-

Tabel 2. Casus 2: antigeentypering van erythrocyten, voor en na serologische scheiding met behulp van anti-B en anti-D.

Antigeen	Voor scheiding	Na scheiding met anti-B	Na scheiding met anti-D
A	positief	positief	positief
B	'mixed field'	negatief	positief
D	'mixed field'	positief	negatief
C	'mixed field'	negatief	positief
E	'mixed field'	positief	negatief
c	positief	positief	positief
e	positief	positief	positief
K	negatief	negatief	negatief
Fy ^a	positief	positief	positief
Fy ^b	positief	positief	positief
Jk ^a	positief	positief	positief
Jk ^b	'mixed field'	positief	negatief
M	positief	positief	positief
N	negatief	negatief	negatief
S	positief	positief	positief
s	'mixed field'	positief	negatief

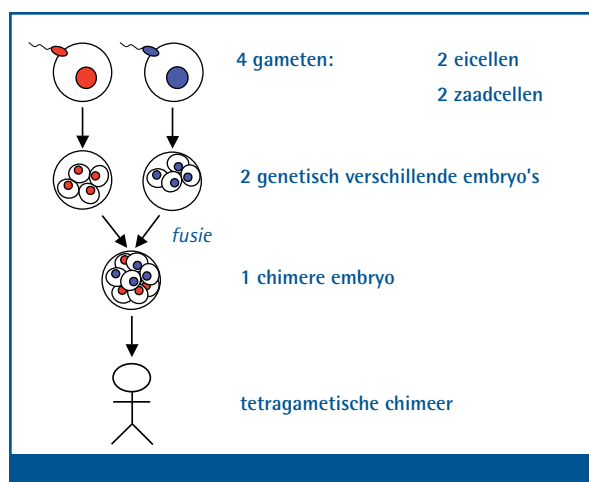
groep A, ccDEe, Jk(a+b+) en Ss, terwijl de andere populatie bloedgroep AB, Ccdee, Jk(a+b-) en SS was (zie *Tabel 2*). In het speeksel, dat een weerspiegeling vormt van de ABO-bloedgroep allelverdeling in de lichaamsvloeistoffen, was een grote hoeveelheid A- en H-antigeen aanwezig en een kleinere hoeveelheid B-antigeen. Zowel in het DNA dat geïsoleerd was uit de leukocytenfractie als uit het wangslim (niet-hematopoëtisch weefsel) werd naast een A-allel zowel een O'- als een B-allel aangetoond en was ook de verdere typering gelijk aan elkaar (CcDEe JKAB Ss). In beide DNA-monsters werden met polymorfe DNA-merkers die ook gebruikt worden voor ouderschapsonderzoek, 3 allelen aangetoond in plaats van het maximaal aantal van 2. Zowel uit de bloedgroeptypering in speeksel en bloed als het DNA-onderzoek blijkt dat de gemengde celpopulatie dus niet alleen aanwezig is in het bloed, maar ook in andere lichaamsweefsels. Bij deze donor was er sprake van een tetragametisch chimerisme en zij dient als donor beschouwd te worden als AB, CcDEe, Jk^b en s positief.

Beschouwing

In dit artikel worden 2 casussen gepresenteerd waarbij een gedeelte van de lichaamscellen genetisch gezien een andere samenstelling heeft. In casus 2

bestaat in meerdere lichaamsweefsels een gemengde celpopulatie (ook wel tetragametisch chimerisme genoemd), terwijl in casus 1 dit ogenschijnlijk alleen het bloedvormende weefsel betreft (=tweelingbloedchimerisme).

Tetragametische chimereën ontstaan door fusie van 2 genetisch verschillende embryo's.² Twee verschillende eicellen worden bevrucht door elk 1 spermacel (4 gameten), waarna de beide embryo's samensmelten (zie *Figuur 3*). Hieruit ontstaat 1 individu met weefsels en organen waarvan de cellen niet eenzelfde set chromosomen hebben. Indien embryo's van hetzelfde geslacht zijn samengesmolten, komt een tetragametisch chimerisme meestal alleen bij toeval aan het licht door bloedgroep- en/of DNA-onderzoek. Hierdoor is het mogelijk dat de incidentie veel hoger is dan de huidige 30-40 literatuurvermeldingen doen vermoeden.^{3,8} Als de beide embryo's een tegenovergesteld geslacht hebben kunnen vanwege het voorkomen van zowel XX- als XY-cellen uiterlijke intersexuele kenmerken ontstaan.⁴ Ook chimereën die ontstaan zijn uit 3 geslachtscellen zijn beschreven.⁵ Het mechanisme waardoor een tweelingbloedchimerisme tot stand komt is niet geheel opgehelderd, maar in de literatuur worden 3 mogelijke theorieën beschreven.^{3,6,7} Allereerst is beschreven dat tweeling-



Figuur 3. De vorming van een tetragametische chimeer uit 4 gameten (oftewel geslachtscellen): 2 eicellen en 2 zaadcellen. Door gelijktijdige bevruchting van 2 eicellen door 1 zaadcel ontstaan 2 genetisch verschillende embryo's. Als deze embryo's in een vroeg stadium met elkaar fuseren ontstaat een chimere embryo.

bloedchimeren veroorzaakt worden door een gedeeltelijk of geheel gemeenschappelijke placenta. Monozygote (eeneiige) tweelingen delen in 70 - 80% van de gevallen de placenta, maar als de zygoot al in de eerste 2 dagen na bevruchting splitst, zullen beide embryo's hun eigen placenta (chorion) ontwikkelen. Bij dizygote (twee-eiige) zwangerschappen ontwikkelen beide zgoten een eigen placenta. Toch wordt verondersteld dat in uitzonderlijke gevallen deze gescheiden placenta's bepaalde bloedvaten kunnen delen. Hierdoor staan de placentaire circulaties van de beide foetussen met elkaar in verbinding, waardoor er uitwisseling kan plaatsvinden van hematopoëtische stamcellen. Vanwege het onrijpe foetale immuunsysteem nestelen deze getransfundeerde stamcellen zich makkelijk in het beenmerg van het tweelingbroertje of -zusje. Hierdoor is 1 individu in staat 2 genetisch verschillende populaties bloedcellen tot expressie te brengen. Bloedvatverbindingen tussen gescheiden placenta's komen echter veel minder vaak voor dan chimeren bij twee-eiige tweelingen die geboren zijn uit een zwangerschap met gescheiden placenta's.^{3,8} Als verklaring wordt gegeven dat de meeste van deze beschreven zwangerschappen kunstmatig tot stand gekomen zijn. Verondersteld wordt dat het opwerkings- en terugplaatsingsproces van de embryo's leidt tot fusie van de buitenste cellaag van de 2 trofoblasten, waaruit later de monochoriale placenta wordt gevormd. Het opmerkelijke van casus 1 is dat hij geboren is uit een dizygote dichoriale zwangerschap (=twee-eiig, geschei-

den placenta's), die spontaan tot stand is gekomen.

Een tweede verklaring is dat hematopoëtische stamcellen tussen beide foetussen worden uitgewisseld via de moederlijke circulatie. Het is bekend dat foetale cellen zich via de placenta verplaatsen naar de moederlijke circulatie en daarin zelfs jaren na de zwangerschap nog aangetoond kunnen worden. De verplaatsing van stamcellen van de moederlijke naar de foetale circulatie is echter nog nooit onomstotelijk aangetoond, waardoor het onwaarschijnlijk is dat volgens dit mechanisme tweelingbloedchimeren ontstaan.

De derde verklaring is beschreven door Boklage.³ Hij stelt dat - net als bij het ontstaan van tetragametische chimeren - 2 dizygote tweelingembryo's in eerste instantie samensmelten, maar dat vervolgens - op dezelfde manier als bij monozygote tweelingen - ook weer splitsing optreedt. De kans dat de beide embryo's na scheiding cellen dragen met elkaars genotype is aanwezig, met het resultaat dat er binnen 1 individu weefsels en organen gevormd worden die niet allemaal dezelfde set chromosomen in hun cellen bezitten. Als dit model klopt, worden naast een bloedchimerisme ook chimera in andere organen van het lichaam verwacht. Een overzicht in de literatuur ontbreekt echter, omdat chimera van het bloed erg vaak worden gerapporteerd in studies waarin alleen het bloed is onderzocht. Casus 1 betrof een jongen die geboren was uit een dizygote dichoriale tweelingzwangerschap en ook nu is niet onderzocht of het chimerisme in het hele lichaam bestaat. Wel is er onderzoek verricht op DNA van wangslimcellen, maar het niet chimeer zijn van deze cellen toont niet automatisch aan dat het chimerisme zich alleen zou beperken tot het bloedvormende weefsel. Volgens dit laatste model zou het ontstaansmechanisme van een tweelingbloedchimerisme niet veel verschillen van een tetragametisch chimerisme (zie *Figuur 3*). Alleen de splitsing van embryo's die in het eerste geval wel plaatsvindt, treedt niet op in geval van een tetragametische chimeer.

Conclusie

Het transfusielaboratorium kan geconfronteerd worden met deze chimeren omdat deze patiënten zich presenteren met 1 of meerdere mixed-fieldreacties in de bloedgroepbepaling. In geval van mixed-fieldreacties moet altijd eerst worden uitgesloten dat het aanwezig zijn van een gemengde celpopulatie niet veroorzaakt wordt door een bloedtransfusie in de afgelopen 3 maanden met niet-identieke, maar wel compatibele erythrocyten of een recente allogene stamceltransplantatie. Vervolgens kan nadere diag-

Aanwijzing voor de praktijk

Indien de antigeentyperingen wijzen op de aanwezigheid van een gemengde celpopulatie dan zijn er verschillende mogelijke oorzaken:

- recente bloedtransfusie (<3 maanden)
- stamceltransplantatie
- chimerisme
- grote foetomaternale transfusie (foetale erythrocyten in maternale circulatie)
- subgroepen van de bloedgroep A (bijvoorbeeld A3)
- chromosoomafwijkingen ten gevolge van leukemie

nostiek verricht worden, waarbij onderzocht wordt of bij de bepaling van andere erythrocytantigenen ook gemengde celpopulaties worden gezien. Er kan onderzoek worden verricht naar DNA-, HLA-, of genetische merkers in andere lichaamscellen, zoals beschreven door Yu et al., waarbij die van het wangslijm het eenvoudigst te verkrijgen zijn.⁹ Indien er geen chimeer aantoonbaar is in wangslijm, kan niet automatisch worden geconcludeerd dat het chimerisme alleen het bloedvormende weefsel betreft.

Referenties

1. Richtlijn Bloedtransfusie 2004. Kwaliteitsinstituut voor de Gezondheidszorg CBO.
2. Gill TJ. Chimerism in humans. *Transplant Proc* 1997;9:1423-31.
3. Boklage CE. Embryogenesis of chimeras, twins and anterior midline asymmetries. *Human Reproduction* 2006;21:579-91.
4. Souter VL, Parisi MA, Nijholt DR, Kapur RP, Henders AK, Opheim KE, et al. A case of true hermaphroditism reveals an unusual mechanism of twinning. *Human Genetics* 2007;121:179-85.
5. Golubovsky MD. Postzygotie diploidization of triploids as a source of unusual cases of mosaicism, chimerism and twinning. *Human Reproduction* 2003;18:236-42.
6. Walker SP, Meagher S, White SM. Confined blood chimerism in monozygotic dizygous (MCDZ) twins. *Prenatal Diagnosis* 2007;27:369-72.
7. Malan V, Vekemans M, Turleau C. Chimera and other fertilization errors. *Clin Genet* 2006;70:363-73.
8. Van Dijk BA, Boomsma DI, De Man AJ. Blood group chimerism in human multiple births is not rare. *Am J Med Genet* 1996;61:264-68.
9. Yu N, Kruskall MS, Yunis JJ, Knoll JH, Uhl L, Alosco SM, et al. Disputed maternity leading to identification of tetragametic chimerism. *N Engl J Med* 2002;346:1545-52.

Ontvangen 24 november 2008, geaccepteerd 20 januari 2009.

Correspondentieadres

Dhr. dr. H. Russcher, klinisch chemicus i.o.
Mw. dr. Y.B. de Rijke, klinisch chemicus

Erasmus MC
Afdeling Klinische Chemie
's Gravendijkwal 230
3015 CE Rotterdam
Tel.: 010 703 35 43
E-mailadres: h.russcher@erasmusmc.nl

Dhr. P.C. Ligthart, senior analist
Mw. dr. M. de Haas, manager Immunohematologie
Diagnostiek, Sanquin Diagnostiek

Sanquin Diagnostiek
Afdeling Immunohematologie Diagnostiek
Plesmanlaan 125
1066 CX Amsterdam

Mw. A.M.E. van Hulst-Sundermeijer, teamleider,
hoofdanalist

Sanquin Bloedbank Regio Zuidwest - locatie Dordrecht
Referentielaboratorium Erythrocytenserologie
Albert Schweitzerplaats 5
3318 AS Dordrecht

Correspondentie graag richten aan de eerste auteur.

Belangenconflict: geen gemeld.
Financiële ondersteuning: geen gemeld.