

Alloimmunizzazione e Reazioni Emolitiche

Marta Bortolotti, Marta Ferraresi, Giovanna Graziadei

SC Ematologia, SC Medicina ad Indirizzo Metabolico
SS Emoglobinopatie e Disordini Ereditari del Metabolismo e del Sistema Immunitario
Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano



XIV CONGRESSO NAZIONALE SITE



Roma, 11-13 Settembre 2025

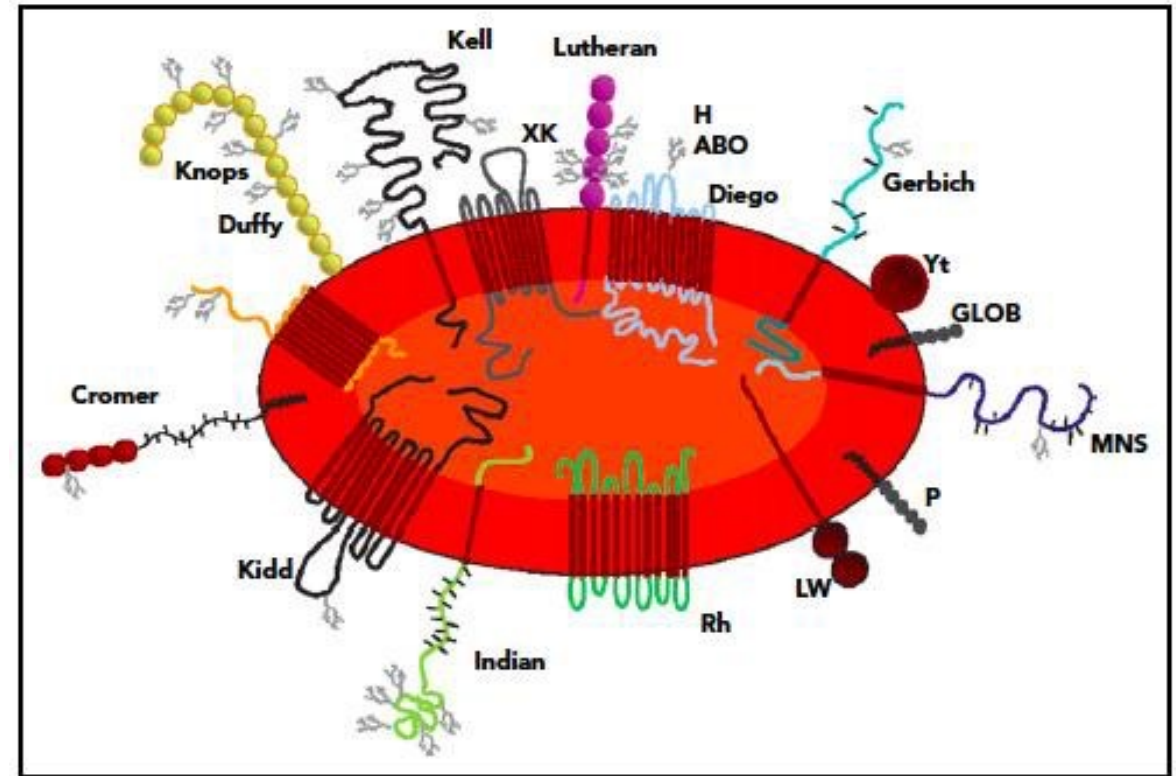
Pontificia Università Urbaniana

Disclosures

Company name	Research support	Employee	Consultant	Stockholder	Speakers bureau	Advisory board	Other
BMS			X				
Vertex			X				
Pfizer			X				

Terapia trasfusionale

- La **terapia trasfusionale** è la più comune procedura terapeutica eseguita nei pazienti ospedalizzati
- Circa il 15% dei pazienti ricoverati riceve almeno una trasfusione durante il ricovero
- La recente introduzione di valori soglia di Hb entro i quali eseguire terapia trasfusionale ne ha limitato l'utilizzo
- **Alloimmunizzazione e Reazioni Trasfusionali, sierologiche o emolitiche**, costituiscono le complicanze più temibili della terapia trasfusionale
- **Esistono centinaia di Ag RBC con diversità strutturale, funzionale e di densità, Ag solo eritroidi o Ag presenti anche su WBC o su tessuti**



Panch SR et al, NEJM, 2019; US Department of Health and Human Services (FDA) <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/SafetyAvailability> 2018; Ellingson KD, Transfusion 2017; Yazer MH, Transfusion 2016

Alloimmunizzazione

Processo immunologico sostenuto dalla risposta anticorpale all'esposizione ad antigeni eritrocitari esogeni "non-self"

- **Cause:**
 - trasfusioni di sangue
 - gravidanza
 - trapianto di organi o tessuti (Ag del sistema HLA)
- **Conseguenze:**
 - Reazioni trasfusionali, sierologiche o emolitiche acute o ritardate
 - Malattia emolitica del feto o del neonato

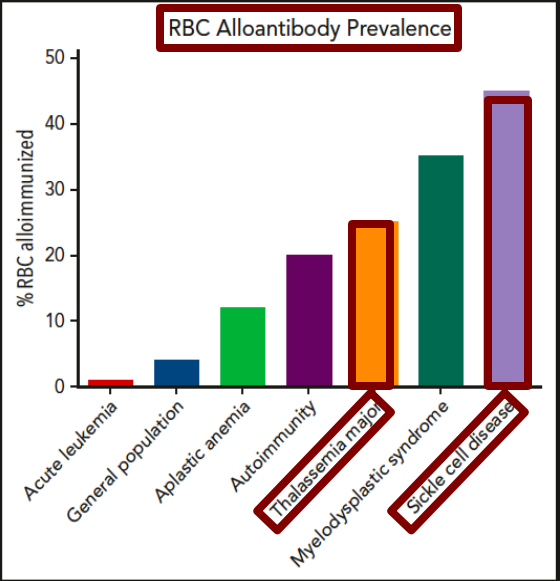
Il tasso di alloimmunizzazione è pari al 2-5%, considerando la quota di anticorpi evanescenti e può variare in rapporto alle diverse popolazioni considerate ed ai diversi tipi di patologia; in SCD 20-50% e Thal 5-45%

E' possibile rilevare solo il 30% degli Allo-Ab con le metodiche attuali

Population or disease state	Reported alloimmunization rate (%)
General adult patients	
Retrospective analysis	1-3
Prospective analysis	8-10
Hemoglobin disorders	
Sickle cell disease	19-43
Thalassemia major	5-45
Inflammatory disorders	
Autoimmune disorders, general	16
Inflammatory bowel diseases	8-9
Lymphoid disorders	
Acute lymphoid leukemia	<1
Hodgkin lymphoma	<1
Non-Hodgkin lymphoma	2-3
Myeloid disorders	
Acute myeloid leukemia	3-16
Myelodysplastic syndromes (includes myelodysplastic/myeloproliferative disorders)	15-59
Solid tumors, nonhematopoietic	1-10
Transplantation	
Hematopoietic progenitor cell	1-4
Liver transplant	4-23
Other sites or multiple organ transplantation	1-10

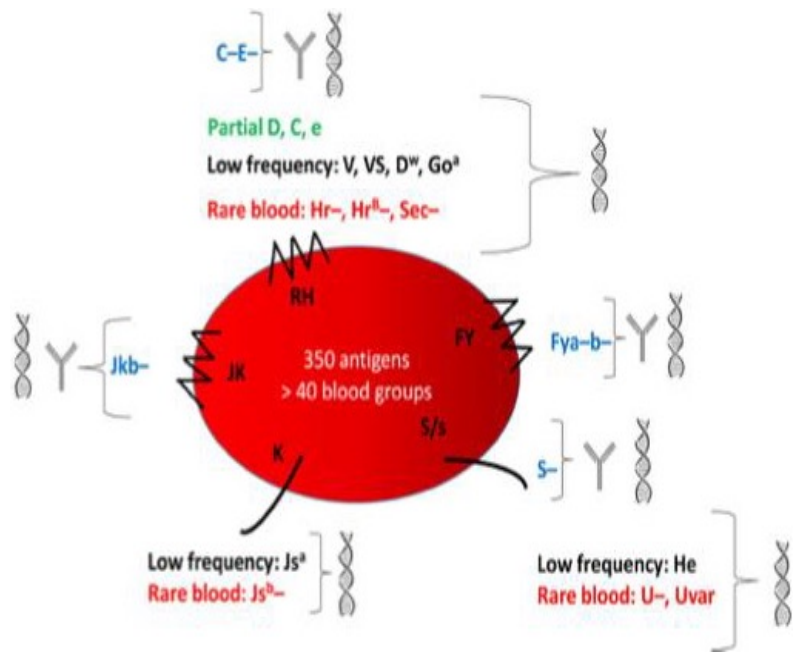
Tormey CA; Transfusion 2008; Hendrickson, JE, Hematology 2016; Hendrickson JE, Hematol Oncol Clin North Am 2016

Evanescenza Alloanticorpale



Caratteristiche dei 5 sistemi antigenici eritrocitari coinvolti con maggiore frequenza nel processo di alloimmunizzazione in SCD

Tasso medio di evanescenza in rapporto alla specificità alloanticorpale eritrocitaria



Blood group system	General patient groups (%) [*]	Sickle cell disease groups (%) [*]
Duffy		
Fy ^a	17	51
Fy ^b	—	78
Kell		
K	32	41
Js ^a	—	80
Kidd		
Jka	49	—
Jkb	54	58
Lewis		
Le ^a	48	—
Le ^b	52	—
Lutheran		
Lu ^a	65	—
MNS		
M	30	38
S	30	66
P		
P1	50	—
Rh		
D	12	36
C	19	47
c	27	0
E	38	41
C ^w	61	—
V	—	39

Pirenne F, Hematology 2021; Tormey CA, Blood 2019

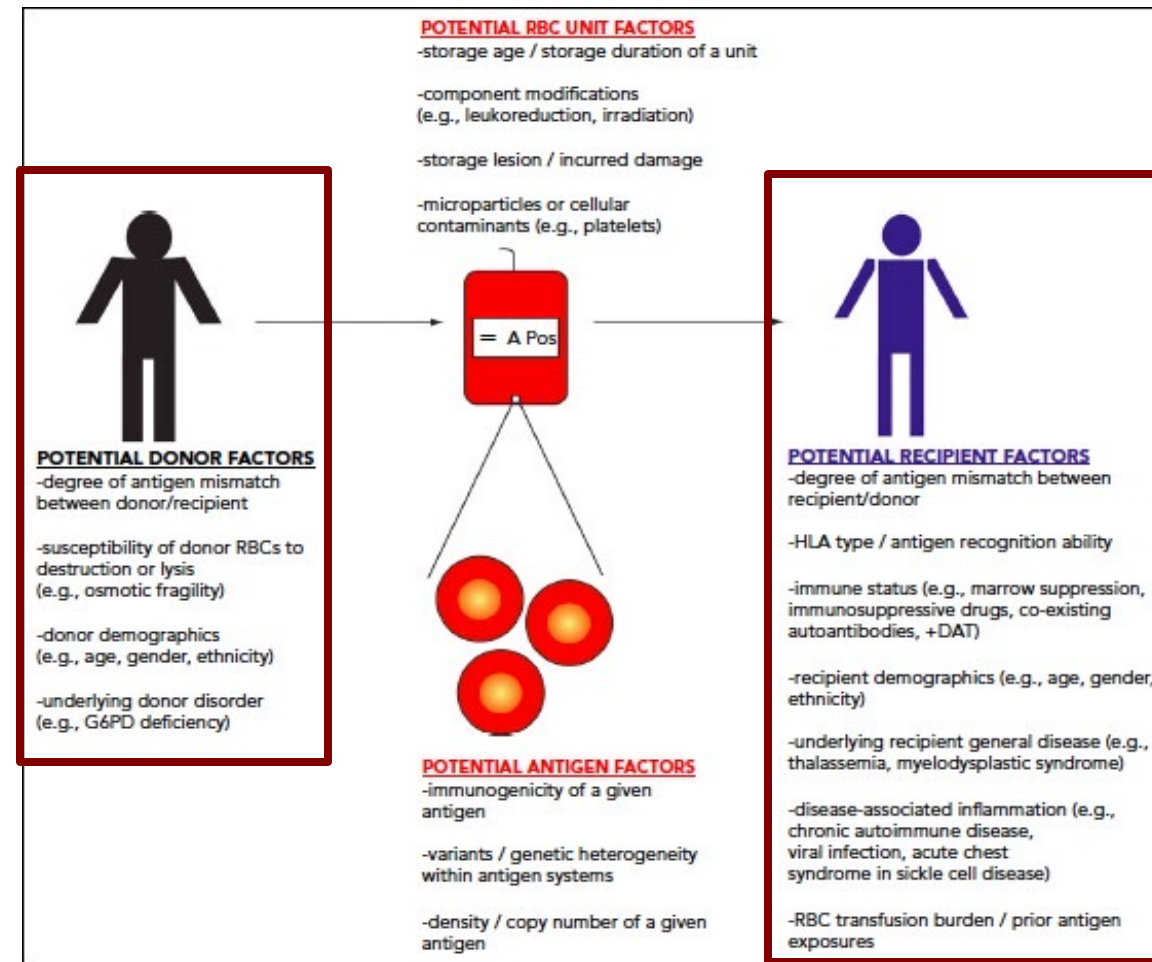
Fattori triggers di alloimmunizzazione

- Fattori legati al donatore

- Match antigenico ed etnico
- **Citochine infiammatorie, patologie concomitanti**

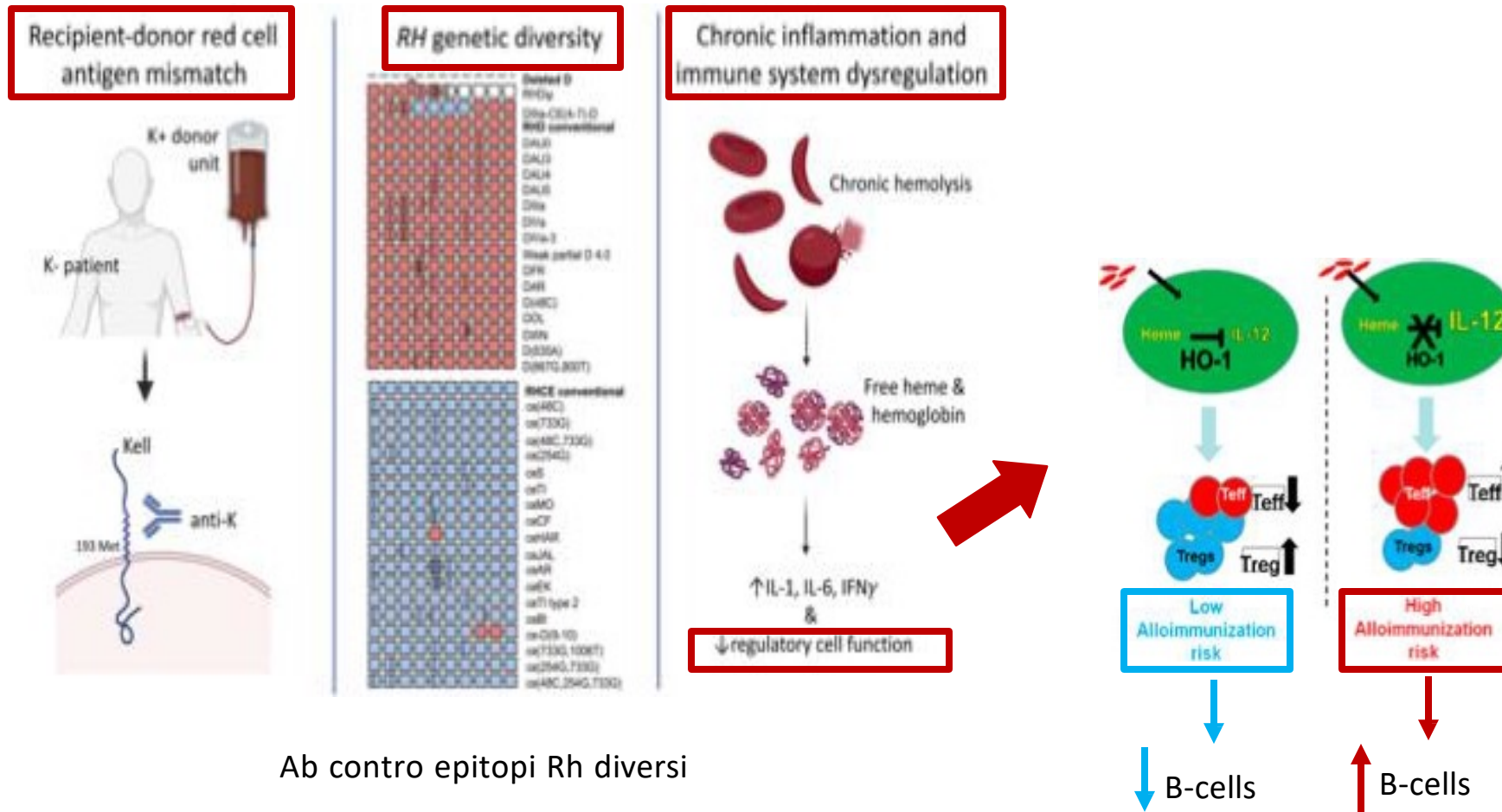
- Fattori legati al ricevente

- Precedente esposizione all'Ag
- Diversa capacità del ricevente di presentare Ag al sistema immunitario (es. su HLA per Ag T-cells linked)
- **Patologie ematologiche, infiammatorie, autoimmuni**
- **"Responders"**: HLA-DRB1 +; CD 81+; patologie concomitanti, SCD. "Segnali di pericolo": agonisti esogeni del recettore Toll-like → aumentano lisi di RBC mediata da cellule dendritiche
- **"Non-Responders"**: immunosoppressori; Ab anti-HLA → tolleranza Ag-specifica (da trasfusione-dipendenza)
- Triggers in gravidanza: emorragia fetale/materna



Hendrickson, JE, Hematology 2016; Blumberg N, Heal JM, Transfusion 2003; Singer ST, Blood. 2000; Ryder AB, Transfus Med Hemother 2014; Tormey CA, Blood 2019

Alloimmunizzazione in SCD



- **SCD: stato infiammatorio cronico = aumentato rischio di alloimmunizzazione**
- Emolisi → Hb circolante ed eme libero → HO-1 → alterazione endoteliale
- Attivazione di macrofagi e neutrofili con secrezione di citochine pro-infiammatorie
- **Disregolazione del sistema immunitario** → influenza la formazione di anticorpi (in SCD Ab anti-HLA)

Linder GE, *Haematologica* 2021
Yazdanbakhsh K, *Hematology* 2016

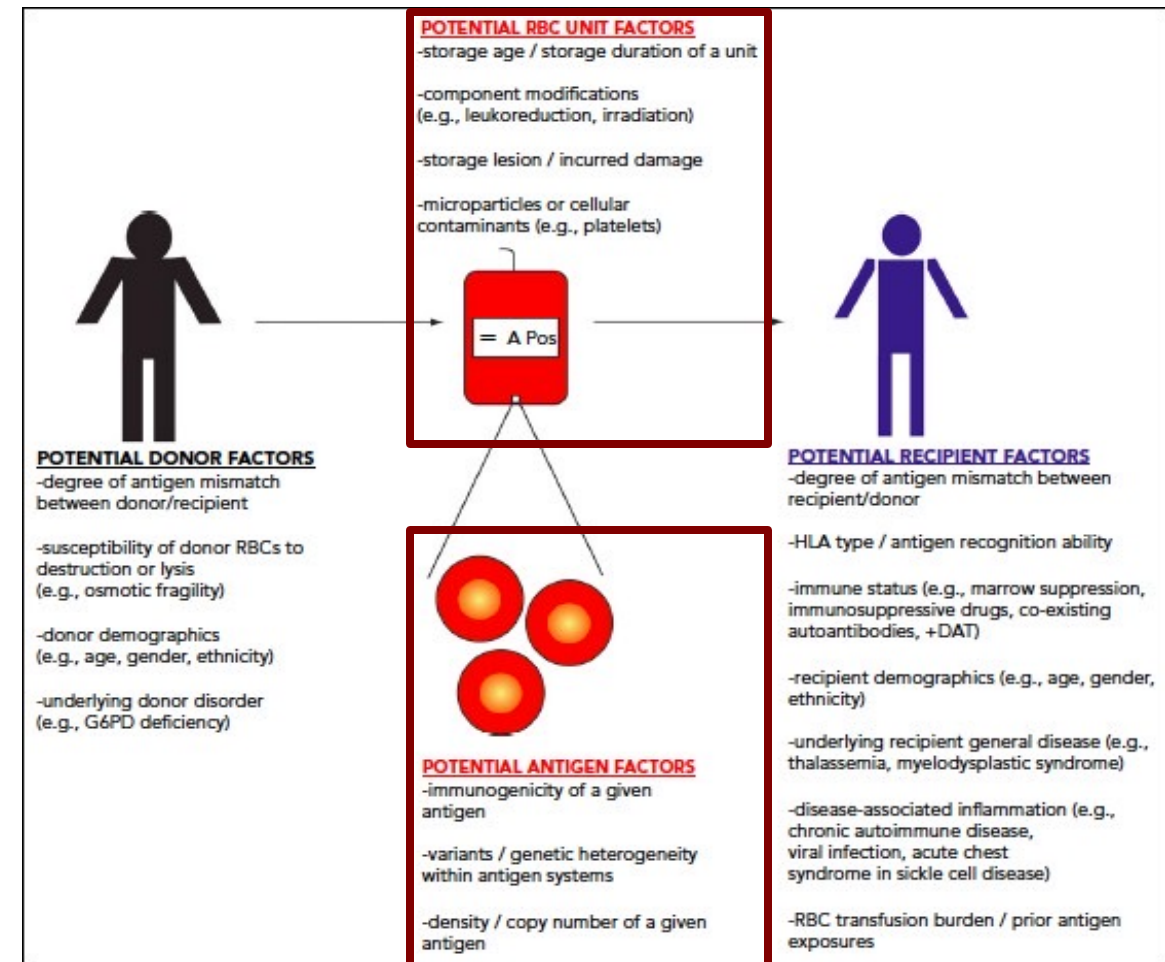
Fattori triggers di alloimmunizzazione

- Fattori legati alle Unità di RBC

- Danno cellulare storage-relato / anticoagulante conservante → influenza su potenziale immunogenicità
- **Citochine infiammatorie** / fattori solubili / WBC e PLT
- Durata dello storage → immunogena (in SCD) e → fagocitosi

- Fattori intrinseci Ag RBC-relati

- Caratteristiche immunogeniche di Ag su RBC trasfusi
- **Densità Ag RBC (RhD) e Copy Number (Kell) → diversa immunogenicità**
- **Citochine infiammatorie**
- Ag non-RBC con sequenze peptidiche lineari condivise con gli Ag RBC possono influenzare la risposta anticorpale ai RBCs trasfusi (es. *Haemophilus influenzae* condivide epitopi con KEL; *Yersinia pestis* con Duffy, Fy → reattività di T-cells, pur senza ET



Hendrickson, JE, Hematology 2016; Blumberg N, Heal JM, Transfusion 2003; Singer ST, Blood. 2000; Ryder AB, Transfus Med Hemother 2014; Tormey CA, Blood 2019; Stephen J, Blood 2012; Hudson KE, Blood 2010

Disclosures of Marta Bortolotti

Company name	Research support	Employee	Consultant	Stockholder	Speakers bureau	Advisory board	Other
Nessun conflitto di interessi da dichiarare							

Reazioni trasfusionali

Reazioni trasfusionali immediate (<24 h)

- **Complicanze non immunomediate**
 - Infezioni da contaminazioni batteriche
 - Ipotermia
 - Ipocalcemia nei bambini e nelle trasfusioni massive
 - TACO – transfusion-associated circulatory overload
- **Complicanze immunomediate**
 - Reazione trasfusionale febbrile non emolitica
 - **Reazione trasfusionale emolitica acuta o immediata:** intravascolare (IgM) o extravascolare (IgG)
 - Reazioni allergiche urticarioidi
 - Reazioni anafilattiche (anti-IgA)
 - TRALI – transfusion-related acute lung injury

Reazioni trasfusionali ritardate (>24 h)

- **Complicanze non immunomediate**
 - HIV, HCV, HBV, CMV
 - Altre: parvovirus B19, HAV, HEV, WNV, dengue, malaria, Chagas disease, brucellosi, sifilide, vCJD
- **Complicanze immunomediate**
 - **Reazione trasfusionale emolitica ritardata (DHTR)** – secondaria ad una risposta immune anamnesticca da alloanticorpi contro gli eritrociti trasfusi
 - Porpora post trasfusionale
 - Graft versus host disease associata a trasfusione

Hoffbrand et al, Postgraduate Haematology, VII ed. 2016, Wiley Blackwell

Reazioni trasfusionali emolitiche: entità del problema

- Circa 1% dei prodotti trasfusi determina una reazione avversa grave
- Di questo 1 %, il 5% rappresenta reazioni emolitiche trasfusionali gravi
- Negli USA, 1-4 morti l'anno per trasfusioni ABO incompatibili
In UK nel 2017, eventi trasfusionali ABO incompatibili quasi fatali: 25 unità per 100.000 eventi
- 1 reazione emolitica acuta ogni 2000 trasfusioni in condizioni di trasfusione d'urgenza (unità non cross-matched)

Panch SR et al, NEJM, 2019

Reazioni trasfusionali emolitiche: cause

Immune-mediated reactions

Acute hemolytic transfusion reaction due to clerical error and consequent ABO or Rh incompatibility

Acute hemolytic transfusion reaction due to emergency transfusion of blood that was not cross-matched

Delayed hemolytic transfusion reaction due to prior (evanescent) antibodies

Hyperhemolysis (with bystander hemolysis [i.e., hemolysis of autologous red cells]) in patients receiving long-term transfusions (for SCD or thalassemia)

Hemolysis due to ABO-incompatible platelet or plasma infusions

Hemolysis due to intravenous immune globulin or Rh immune globulin

Passenger lymphocyte syndrome after hematologic or solid-organ transplantation

Pure red-cell aplasia after transplantation (destruction of erythroid precursors in bone marrow)

Non-immune-mediated reactions

Thermal injury (excess heat or cold)

Osmotic lysis (from dextrose or inadequate deglycerolization)

Mechanical injury (from pressurized or rapid infusions or infusion through a narrow leukodepletion filter)

Conditions with exacerbated hemolysis after transfusion

Autoimmune hemolytic anemia (warm or cold agglutinin disease)

Drug-induced immune-mediated hemolytic anemia

Sepsis in recipient or infusion of infected donor blood

Red-cell membrane defects in donor or recipient

Reazioni trasfusionali emolitiche acute o immediate (AHTR)

Intravascolari

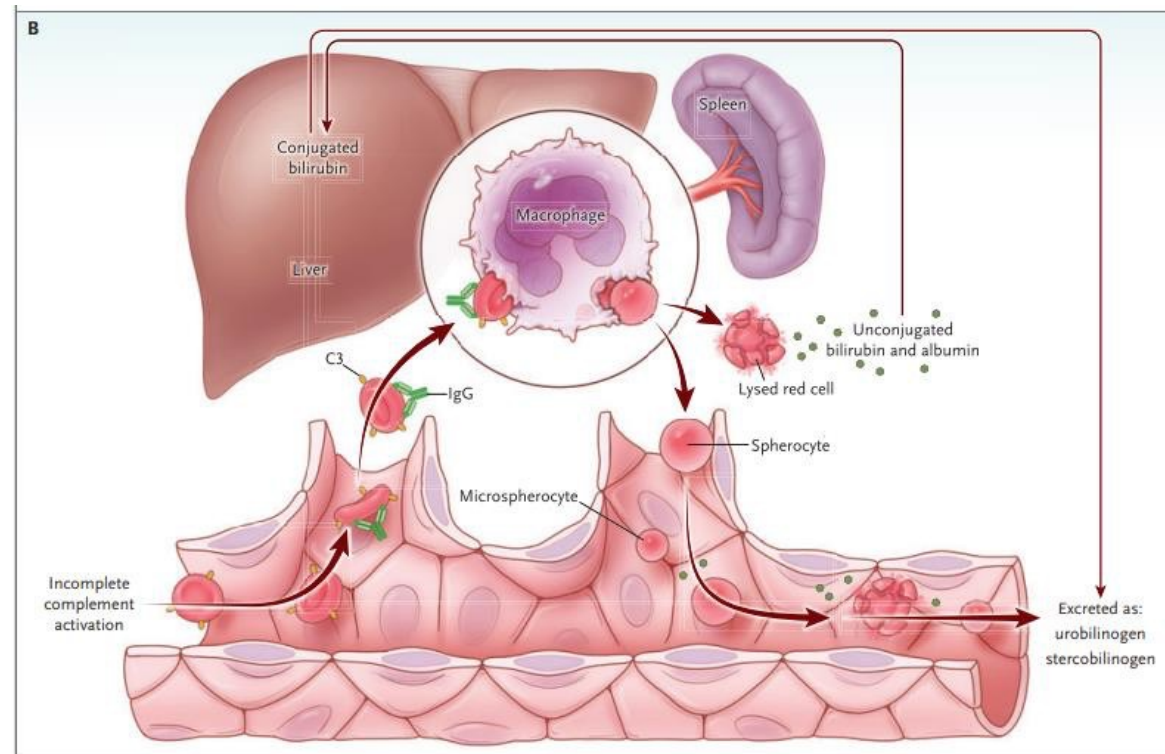
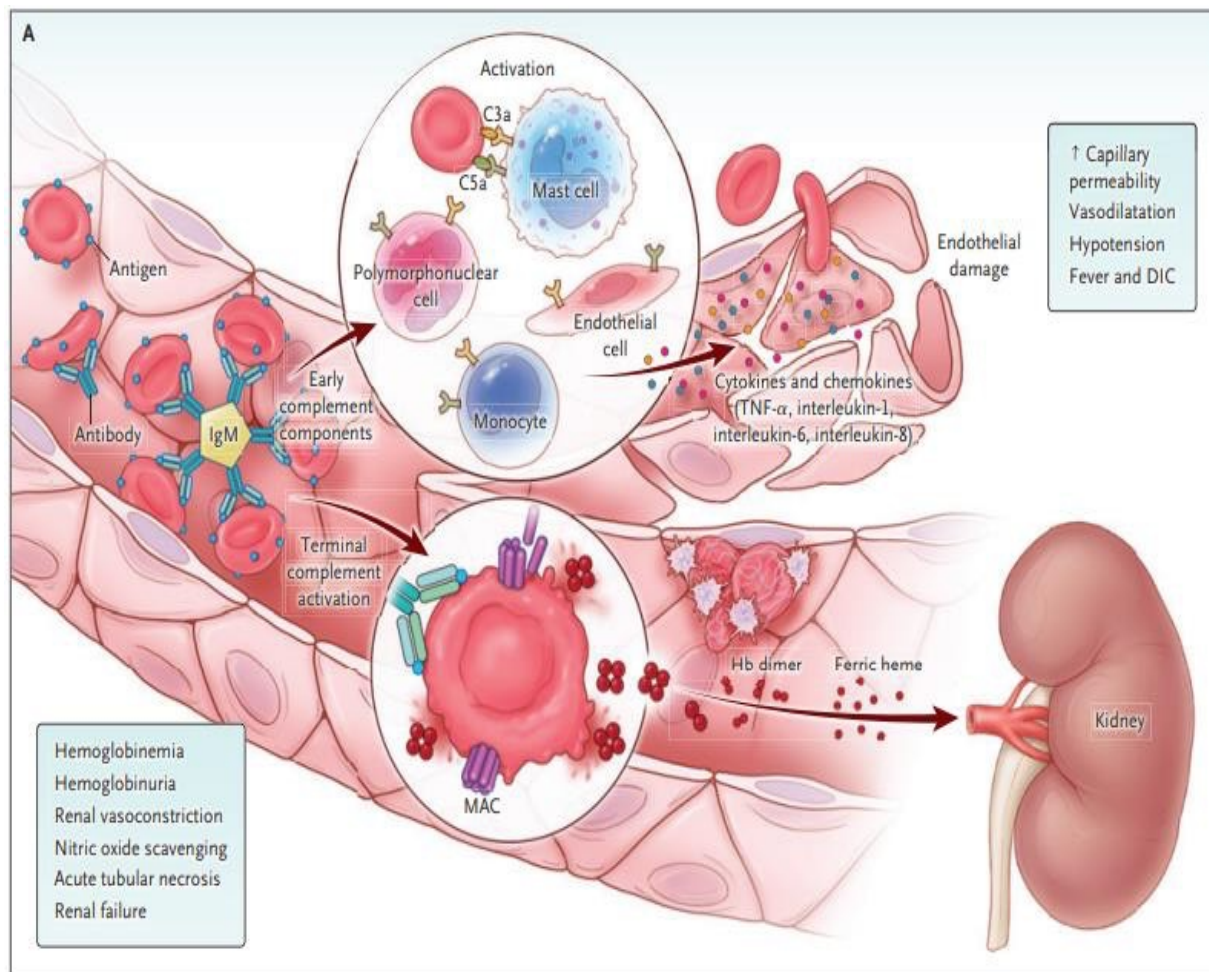
- Rappresentano le **HTR più pericolose** con quadri clinici gravi caratterizzati da anafilassi, ipotensione, IRA, e DIC, fino a quadri di shock e MOF
- Sono praticamente sempre conseguenza di una **ABO-incompatibilità**
- Sono associate ad una **massiva attivazione della cascata del complemento** da parte di anticorpi di classe **IgM persistenti** (antiA,B, anti-A, anti-B presenti tipicamente nel ricevente o, più raramente, nel plasma del donatore) o, meno frequentemente, da IgG in grado di fissare e attivare il complemento

Extravascolari

- Secondarie ad una reazione di **incompatibilità verso Ag Rh o altri Ag non-ABO**
- Mediate da **Ab di classe IgG** ± attivazione del complemento
- **Gravità** dipendente da: grado di emolisi intravascolare associata, affinità, titolo, classe e sottoclasse anticorpale, natura dell'antigene, numero di GR incompatibili trasfusi (↓ titolo Ab con ↑ n° GR trasfusi → > diluizione dell'Ab e < emolisi), stato clinico del paziente
- **Clinica** (segni e sintomi di solito dopo >1 h): aumento degli indici di emolisi, febbre, mancato raggiungimento del target emoglobinico, rara IRA, bassa mortalità ma **impatta sulla sopravvivenza nei paziente già comorbidi**.

Hoffbrand et al, Postgraduate Haematology, VII ed. 2016, Wiley Blackwell

Reazioni trasfusionali emolitiche: intravascolari vs extravascolari



Gli Ab di classe IgG possono attivare o meno il complemento fino al C3b:

- Se non lo attivano vengono rimossi per fagocitosi o citotossicità principalmente nella polpa splenica
- Se lo attivano, la fagocitosi viene accelerata dai recettori per C3b sui macrofagi e avviene anche a livello dei sinusoidi epatici

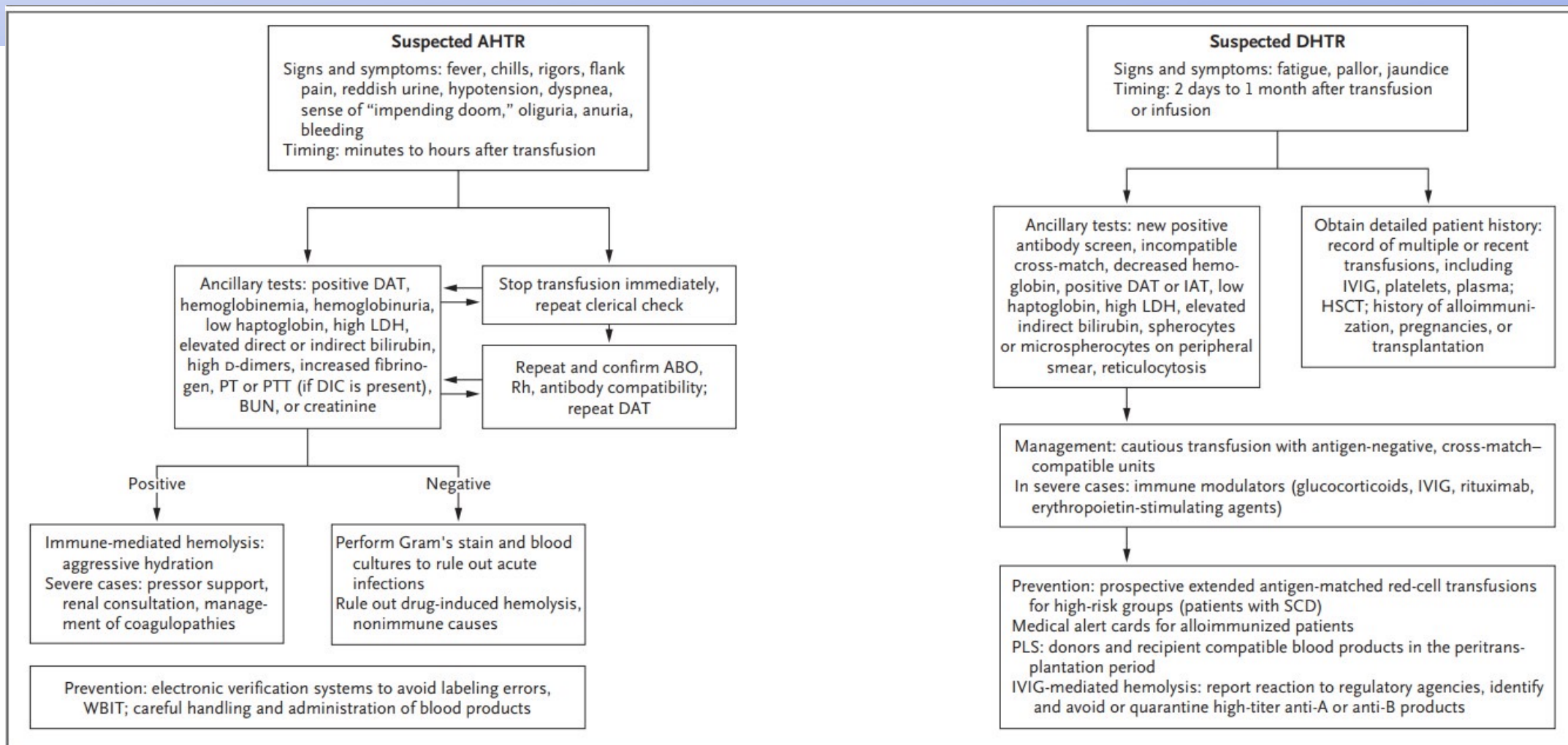
Panch SR et al, NEJM, 2019

Reazioni trasfusionali emolitiche ritardate (DHTR)

- incidenza: da 1:500 a 1:10.000 trasfusioni
- 4.3% di tutte le reazioni trasfusionali e 16% di quelle gravi
- Quasi sempre causata da una risposta immunologica secondaria (anamnestica) in pazienti immunizzati da precedenti trasfusioni, allo-HSCT o gravidanza → Ab di classe IgG → emolisi principalmente extravascolare
- Raramente costituiscono un'emergenza medica, spesso asintomatiche → delayed serological transfusion reactions
- Clinica: anemia, ittero, incremento degli indici emolitici (> bilirubina). Rare febbre, emoglobinuria e emoglobinemia.
- **TUTTAVIA:** eventi severi iperemolitici possono verificarsi in pazienti politrasfusi con una sottostante condizione ematologica caratterizzata da emolisi cronica e disregolazione del complemento (i.e., **SCD** e **talassemia**) o in caso di infezione malarica e sono secondari allo sviluppo di un **quadro iperinflammatorio**, all'**attivazione del complemento**, all'**emolisi dei precursori eritroidi (reticolocitopenia)** e all'instaurarsi di uno **stato pseudoautoimmune**

Panch SR et al, NEJM, 2019;
Pirenne F & Pondarre C, ASH Educ. Program 2023

Reazioni trasfusionali emolitiche: gestione



Ritestare la compatibilità delle sacche possibilmente implicate nella HTR con un nuovo prelievo di plasma del paziente, soprattutto in caso di DAT e screening anticorpale post reazione negativi.

Attenzione alle antibody-negative DHTR!

Panch SR et al, NEJM, 2019
Hendrickson JE & Fasano RM, ASH Educ Program 2021

Reazioni trasfusionali emolitiche ritardate (DHTR): trattamento

1. Terapia di supporto (iperidratazione, monitoraggio e stimolazione della diuresi, alcalizzazione urinaria, vasopressori, correzione elettrolitica, plasmaderivati se DIC, plasma exchange)
2. Ottimizzazione dell'eritropoiesi → eritropoietina ± ferro ev
3. Immunosoppressione → steroidi ad alto dosaggio ± IVIG; rituximab
4. Inibitori del complemento → eculizumab (non evidenze con inibitori prossimali del complemento; con eculizumab viene impedita la formazione del MAC ma non la deposizione del C3b sulle emazie)
5. Evitare trasfusioni non necessarie

Pirenne F & Pondarre C, ASH Educ. Program 2023
Hendrickson JE & Fasano RM, ASH Educ Program 2021
Panch SR et al, NEJM 2019
Adkins BD et al, Transfusione 2024
Chou ST et al, BloodAdv 2020

Reazioni trasfusionali emolitiche ritardate (DHTR): prevenzione primaria

- Screening antigenico esteso: C/c, E/e, K, Fya/Fyb, Jka/Jkb e S/s
- Raccolta accurata della storia trasfusionale e contatti con centro in cui il paziente ha precedentemente trasfuso
- Ripetere lo screening anticorpale entro 1-3 mesi dalla precedente trasfusione soprattutto in pazienti che trasfondo in maniera incostante

Pirenne F & Pondarre C, ASH Educ. Program 2023
Hendrickson JE & Fasano RM, ASH Educ Program 2021
Panch SR et al, NEJM 2019
Adkins BD et al, Transfusione 2024
Chou ST et al, BloodAdv 2020

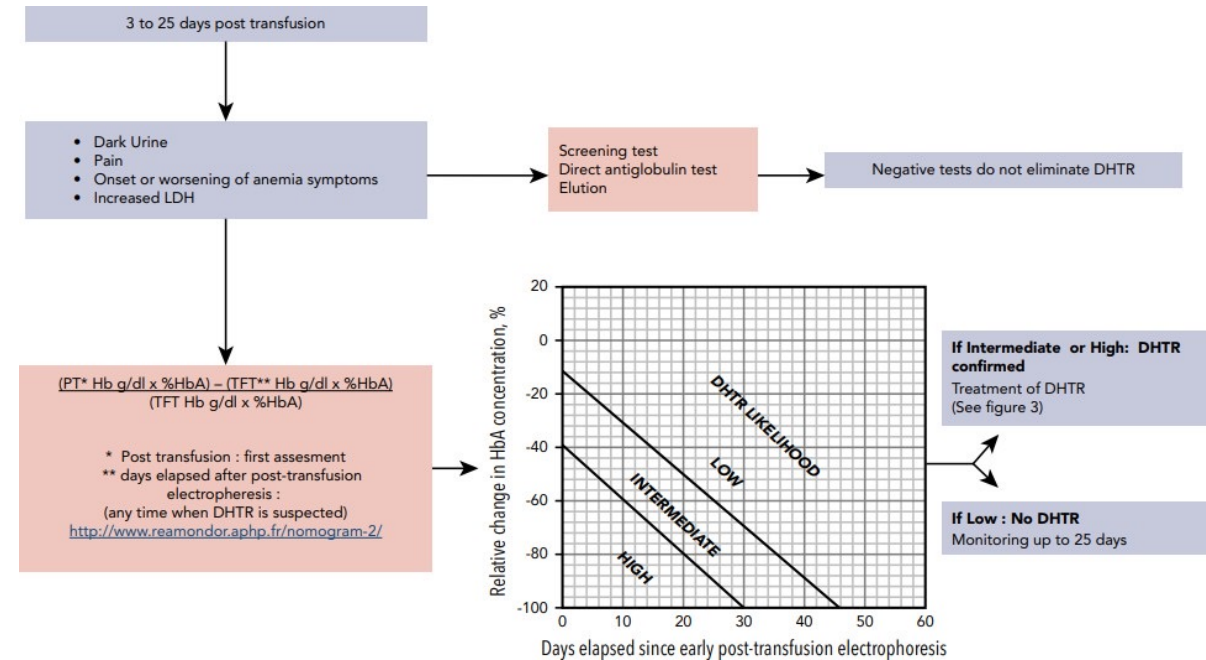
Allo o auto? Anemia emolitica autoimmune nelle emoglobinopatie e nelle anemie emolitiche congenite

- La AEA può complicare una forma congenita di anemia in circa 1% dei casi
- FdR: pregressa splenectomia, recente trasfusione, infezioni, gravidanza.
- Diagnosi complicata in presenza di emolisi cronica, storia trasfusionale positiva, alloimmunizzazione pregressa
 - campanelli d'allarme: peggioramento repentino dei livelli di Hb basali, degli indici emolitici e del fabbisogno trasfusionale
- Cruciale la collaborazione stretta tra clinici e trasfusionisti e la distinzione tra allo e auto-Ab (screening anticorpale, IAT, DAT con metodi sensibili, eluato per lo studio di autoAb, tecniche di auto/allo-assorbimento per escludere la presenza di allo-Ab, tipizzazione estesa)
- Terapia mutuata dalle AIHA primitive

Panch SR et al, NEJM 2019
Motta I et al, J. Clin. Med. 2021

Reazioni trasfusionali emolitiche ritardate (DHTR) nella SCD

- Incidenza nella SCD: da 1 a 20% delle trasfusioni
- 5% della mortalità nella SCD è data da DHTR
- Cause di maggior incidenza: differenze antigeniche tra gruppi etnici africani (> pazienti) e caucasici (> donatori), stato infiammatorio cronico.
- Nei pazienti con SCD la DHTR entra in diagnosi differenziale con la VOC e può associarsi ad essa facendone da trigger
- DHTR probabile se calo HbA >50% e Hb >25-30% post trasfusione

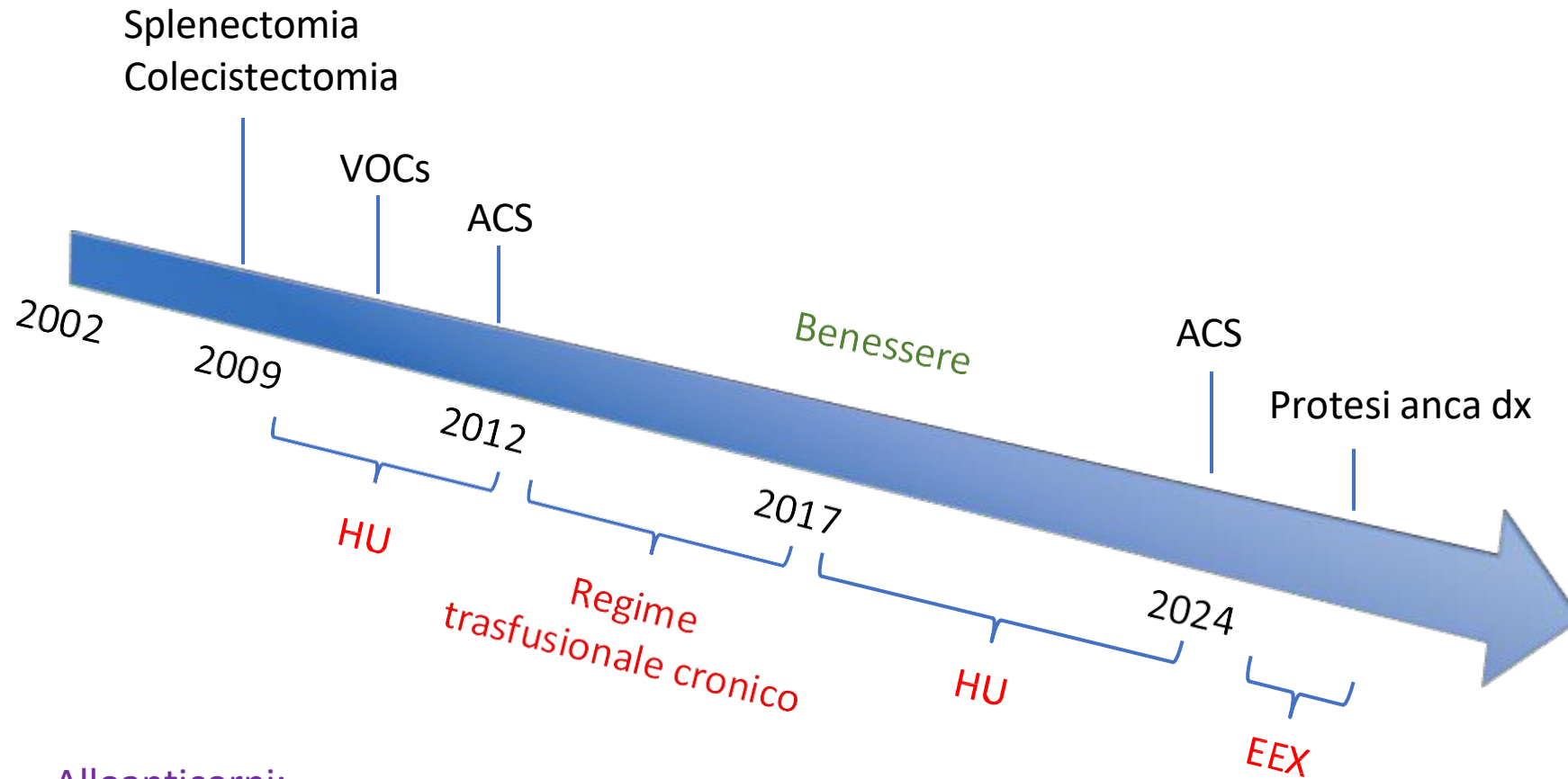


Pirenne F & Pondarre C, ASH Educ. Program 2023
Hendrickson JE & Fasano RM, ASH Educ Program 2021
Pirenne F & Yazdanbakhsh K, Blood. 2018;131(25):2773-2781

Disclosures of Marta Ferraresi

Company name	Research support	Employee	Consultant	Stockholder	Speakers bureau	Advisory board	Other
Nessun conflitto di interessi da dichiarare							

22 anni, origini caucasiche, HbS/IVS 1-110



Alloanticorpi:
anti-E, anti-c, anti-Cw, anti-Lua, anti-Wra

25/12 accesso in PS per dolore toracico non responsivo alla terapia antidolorifica domiciliare. EO, ECG, EGA venoso, RX torace nei limiti di norma

1 PRBC
- 400 cc

Exams	25/12	27/12
Hb (g/dl)	9.3	9.6
Platelets (x10 ⁹ /l)	437	317
Reticulocytes (x10 ⁹ /l)	-	658
WBC (x10 ⁹ /l)	19.00	10.83
Bilirubin: tot/dir (μmol/L)	7.27	7.15
LDH (UI/L)	394	
AST (UI/l)	74	
ALT (UI/l)	54	
GGT (UI/l)	29	
CRP (mg/l)	6.3	63.1
HbA2 (%)	4	4
HbF (%)	2.7	2.6
HbS (%)	39.4	35.4

➔ Ceftriaxone 2 g die, RL 2000 cc/24h, terapia antalgica di combinazione con paracetamolo + FANS ab + morfina infusione continua, EBPM in profilassi

➔ Scambio eritrocitario manuale con 1 UEC/-400 cc

1 PRBC
- 400 cc

1 PRBC
- 400 cc

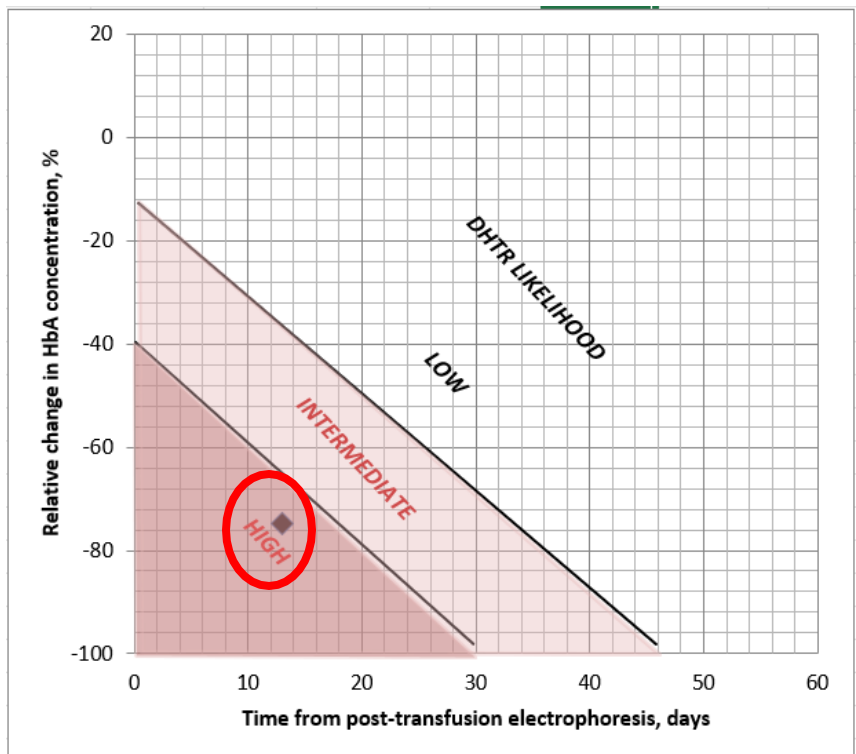
Exams	25/12	27/12	28/12	01/01
Hb (g/dl)	9.3	9.6	9.2	9.3
Platelets (x10 ⁹ /l)	437	317	326	441
Reticulocytes (x10 ⁹ /l)	-	658		384
WBC (x10 ⁹ /l)	19.00	10.83	12.55	11.49
Bilirubin: tot/dir (μmol/L)	7.27	7.15	7.34	3.36
LDH (UI/L)	394			410
AST (UI/l)	74		255	70
ALT (UI/l)	54		348	164
GGT (UI/l)	29		107	136
CRP (mg/l)	6.3	63.1	89.9	68.3
HbA2 (%)	4	4		3.8
HbF (%)	2.7	2.6		2.4
HbS (%)	39.4	35.4		31.8

TC torace

Exams	1 PRBC - 400 cc		1 PRBC - 400 cc		2 PRBC - 400 cc		Metilprednisolone 1 mg/kg		Metilprednisolone 250 mg		+ IvIg 0.4 g/Kg	
	25/12	27/12	28/12	01/01	02/01	03/01	04/01	05/01	06/01	07/01		
Hb (g/dl)	9.3	9.6	9.2	9.3	8.6	6.6	3.9	4.3	3.4	1.8		
Platelets (x10 ⁹ /l)	437	317	326	441	569	541	555	552	498	338		
Reticulocytes (x10 ⁹ /l)	-	658		384						76		
WBC (x10 ⁹ /l)	19.00	10.83	12.55	11.49	22.95	26.57	30.97	36.62	30.90	32.46		
Bilirubin: tot/dir (μmol/L)	7.27	7.15	7.34	3.36	5.93	8.25	7.41		5.43	6.02		
LDH (UI/L)	394			410	518	728	895	942	2313	3380		
AST (UI/l)	74		255	70	69			98	237	230		
ALT (UI/l)	54		348	164	129				181	157		
GGT (UI/l)	29		107	136	141				136	126		
CRP (mg/l)	6.3	63.1	89.9	68.3	43.7	49.7	46.8		85	165.5		
HbA2 (%)	4	4		3.8	3.8					3.3		
HbF (%)	2.7	2.6		2.4	2.5					2.4		
HbS (%)	39.4	35.4		31.8	32.5					15.4		

TC torace

Autoanticorpi panagglutinanti



The relative change in HbA concentration is calculated as $100 \times (\text{HbA concentration at DHTR suspicion} - \text{post-transfusion HbA concentration}) / \text{post-transfusion HbA concentration}$; with HbA concentration expressed in g/dL (percent HbA * total Hb in g/dL).

Exams	27/12	07/01	22/01
C3 (g/L vn 0.9-1.8)	1.18	1.18	1.25
C4 (g/L vn 0.10-0.40)	0.27	0.09	0.17
Ferritin	1381		
EPO (UI/L)	15.50		

DAT positivo per IgG, IgM, anti C3d per la presenza di autoanticorpi eritrocitari di specificità anti-e e anti-I

Riconfermata la presenza di alloanticorpi eritrocitari di specificità anti-C^w

Metilpredn 0.5mg/kg (30 mg)				
Exams	07/01	08/01	09/01	10/01
Hb (g/dl)	1.8	4.2	2.6	3.8
Platelets (x10 ⁹ /l)	338	307	242	310
Reticulocytes (x10 ⁹ /l)	76		44	44
WBC (x10 ⁹ /l)	32.46	26.99	28.58	24.60
Bilirubin: tot/dir (μmol/L)	6.02	5.11	4.49	5.03
LDH (UI/L)	3380	3703	3201	2932
AST (UI/l)	230	397	246	174
ALT (UI/l)	157	312	319	291
GGT (UI/l)	126		137	131
CRP (mg/l)	165.5		47.7	48.4
HbA2 (%)	3.3			
HbF (%)	2.4			
HbS (%)	15.4			

Eculizumab
900 mg

2 PRBC

Eritropoietina 10000 UI

Alloimmunizzazione nella SCD

Prevalenza

- 5 – 50%

Eziologia

- Mismatch antigenico tra ricevente e donatore
- Varianti alleliche gruppo RH
- Infiammazione

Conseguenze

- Difficoltà a trovare emazie compatibili
- Aumentato rischio di reazioni emolitiche post trasfusionali

Prevenzione

- Matching antigenico esteso con genotipizzazione

Chou ST et al, Blood Adv. 2020

Linder GE et al, Haematologica. 2021

Fasano RM et al, Transfus Med Rev. 2019

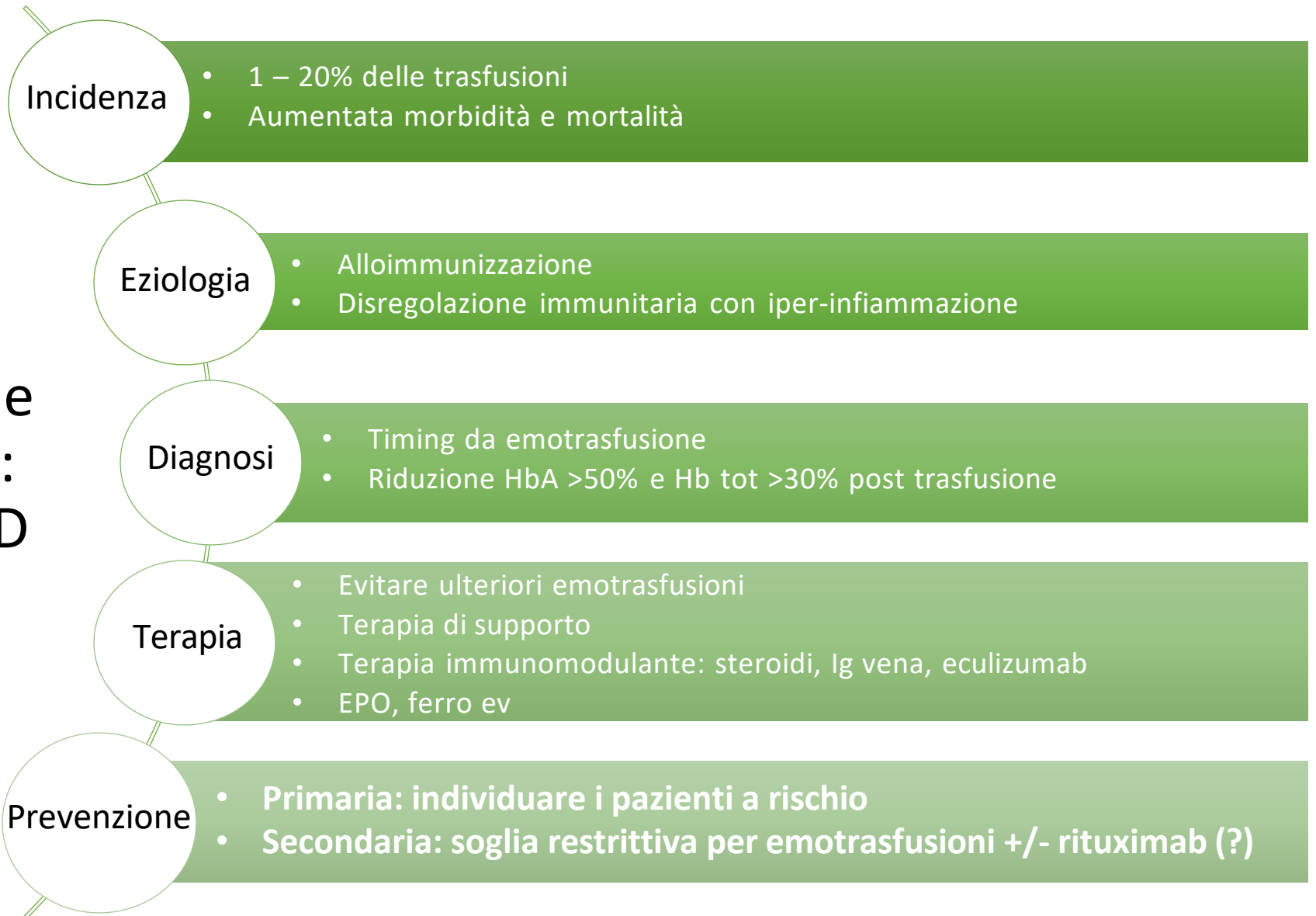
Davis BA et al, Br J Haematol. 2017

Pirenne F et al, Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2023

Yazdanbakhsh K, Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2016

Zheng Y et al, Blood Adv. 2023

Reazioni emolitiche post-trasfusionali: DHTR/HS nella SCD



Pirenne F et al, Transfus Clin Biol. 2019

Pirenne F et al, Blood. 2018

Narbey D et al, Am J Hematol. 2017

Fasano RM et al, Transfus Clin Biol. 2019

Hendrickson JE et al, Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2021