



## **Samenvatting proefschrift S. Bezstarosti**

“HLA epitopes in kidney transplantation: from basic science to clinical application”

**Promotie: 5 oktober 2023  
Leiden University Medical Center  
Leiden**

**Promotores:**  
Prof. dr. J.W. de Fijter  
Prof. dr. M.E.J. Reinders

**Copromotor:**  
Dr. S. Heidt

### **Nierziekten**

Wereldwijd zijn er meer dan 800 miljoen mensen met een chronische nierziekte. Het hebben van een chronische nierziekte is een enorme belasting voor de patiënt en gaat gepaard met een hoge ziektelast (morbiditeit) en kans op sterfte (mortaliteit). Een deel van de patiënten met een chronische nierziekte heeft uiteindelijke nierfunctie-  
vervangende therapie nodig, zoals dialyse, of door middel van een transplantatie. Niertransplantatie is de behandeling van voorkeur voor een groot deel van de patiënten, omdat deze behandeling significant betere uitkomsten heeft dan dialyse. Helaas zijn er nog steeds veel patiënten zijn wiens donornier faalt, met name door chronische afstoting door het immuunsysteem.

### **Het HLA systeem**

Het HLA systeem is een cruciaal onderdeel van het immuunsysteem, omdat het het lichaam in staat stelt lichaamsvreemde antigenen te herkennen. Het HLA systeem bestaat uit klasse I en klasse II moleculen, die op hun beurt zijn onderverdeeld in HLA-A, -B en -C (klasse I) en HLA-DR, -DQ en -DP (klasse II).

Het HLA systeem is extreem polymorf; dit betekent dat geen enkel mens hetzelfde HLA type heeft. De enorme verscheidenheid in HLA typen is gunstig vanuit een evolutionair perspectief, omdat dit de kans vergroot dat in het geval van een epidemie, er minstens een aantal leden van de populatie zijn die de infectie effectief kunnen bestrijden. De enorme verscheidenheid in HLA typen wordt veroorzaakt door het feit dat het HLA systeem bestaat uit meerdere moleculen die op verschillende plaatsen in het genoom zijn vastgelegd (de verschillende loci: HLA-A, -B, -C, -DR, -DP en -DQ). Ieder mens erft per locus 1 allel van de vader en 1 allel van de moeder. Omdat er voor elke locus duizenden verschillende polymorfismen zijn beschreven, betekent dit dat



geen mens hetzelfde HLA type heeft. Hierop is een uitzondering: in het geval van een tweeling zal het HLA type wel gelijk zijn.

### **De afstoting van een donororgaan**

Hoewel de enorme verscheidenheid in HLA typen voor een evolutionair voordeel zorgt, is het een groot obstakel in orgaantransplantatie. Na de transplantatie van een donororgaan kunnen de HLA moleculen die aanwezig zijn op het donororgaan worden herkend door het immuunsysteem van de ontvanger. Wanneer de HLA moleculen van de donor worden herkend door het immuunsysteem van de ontvanger zal er zowel een cellulaire als een humorale afweerreactie op gang komen. Een van de belangrijkste componenten hierbij is de productie van donor-specifieke antistoffen (DSA). Dit zijn antilichamen die zijn gericht tegen de HLA moleculen van de donor, en veroorzaken met name chronische afstoting.

### **HLA epitopen**

Om de vorming van nieuwe antistoffen tegen donor-HLA tegen te gaan wordt in transplantatieprogramma's gematcht op HLA. Eurotransplant, de Europese samenwerking waarin 8 landen vertegenwoordigd zijn, matcht op HLA-, -B en DR in hun niertransplantatieprogramma. Echter, door het hoge polymorfisme van HLA en de schaarste aan organen ontvangen patiënten vrijwel altijd een donornier met enige vorm van HLA mismatch.

Interessant genoeg is gebleken dat de verschillen tussen de duizenden HLA allelen verklaard kunnen worden door een paar honderd polymorfe aminozuren, die *epitopen* worden genoemd. Ter illustratie van dit concept kan het HLA molecuul worden voorgesteld als een halsketting die bestaat uit verschillende kralen. Ieder HLA allel heeft een unieke volgorde van kralen, maar sommige kralen komen voor ook voor in andere halskettingen (de HLA allelen). De epitooop is in dit geval de kraal van de ketting, oftewel een bouwsteen van een HLA allel, die ook in andere HLA allelen kan voorkomen.

Theoretisch gezien betekent dit dat een donornier die HLA mismatches op moleculair niveau heeft, geen mismatches hoeft te hebben op epitooop niveau. Dit is van belang omdat het immuunsysteem uiteindelijk niet het molecuul in zijn geheel herkent, maar slechts een configuratie van aminozuren (de epitooop). In de transplantatiewereld wordt de epitooop ook wel *eplet* genoemd. Afgelopen jaren is er veel aandacht geweest voor epitopen/eplet in transplantatie, omdat het gebruik van epitopen of eplets zou kunnen leiden tot betere HLA matches in orgaantransplantatie. Meerdere studies hebben de relatie aangetoond tussen de HLA mismatch op eplet niveau, en het ontstaan van nieuwe donor-specifieke antistoffen. Echter, op dit moment wordt eplet-matchen nog niet toegepast in transplantatieprogramma's, omdat empirisch bewijs voor klinisch relevante eplets grotendeels ontbreekt. Met andere woorden, het is nog niet duidelijk welke eplet mismatches echt zullen leiden tot de vorming van nieuwe DSA en daarmee dus ook tot de chronische afstoting van de donornier.



## **Dit proefschrift**

Om te onderzoeken welke eplets echt klinisch relevant zijn hebben we recombinante antilichamen gemaakt die gericht zijn tegen HLA. Vervolgens hebben we onderzocht welke HLA allelen er precies herkend worden door het antilichaam, waaruit we vervolgens kunnen afleiden welk eplet of epitoot er precies herkend wordt. Door middel van deze methode hebben we meerdere HLA-DQ eplets kunnen verifiëren.

Er zijn verschillende methoden om HLA eplets in het laboratorium te verifiëren. In dit proefschrift hebben we al het eerdere bewijs voor antistof-verificatie van HLA eplets op een rij gezet en een classificatiesysteem geïntroduceerd, waarmee alle beschikbare data is geclassificeerd naar bewijskracht. Verder beschrijven we de genetische verandering van een HLA molecuul, om zo te onderzoeken welk epitoot precies herkend wordt door een HLA-specifiek antilichaam. Met deze methode hebben we kunnen afleiden welk aminozuur op het HLA molecuul cruciaal is voor het binden van dit specifieke antilichaam.

In het tweede deel van dit proefschrift wordt de klinische toepassing van HLA epitopen in de transplantatiekliniek beschreven. De analyse van HLA aminozuurmismatches van een groot cohort niertransplantatiepatiënten laat zien dat niet alleen HLA eplet, maar ook HLA aminozuurmismatches geassocieerd zijn met DSA formatie, en mogelijk gebruikt kunnen worden om het immunologisch risico van een transplantatiepatiënt in te kunnen schatten. Dit is van groot belang, omdat veel patiënten ernstige bijwerkingen van hun immunosuppressiva ondervinden, waaronder een verhoogd risico op infecties, kanker en cardiovasculaire aandoeningen. Wanneer we het immunologisch risico van patiënten beter kunnen inschatten, kunnen patiënten die worden geclassificeerd als laag-risico, behandeld worden met een lagere dosering immunosuppressiva, waardoor er minder kans is op bijwerkingen.

Een behandeling met celtherapie is een van de methodes waarvan wordt onderzocht of het kan bijdragen aan het verminderen van het gebruik van immunosuppressiva. In dit proefschrift wordt aangetoond dat analyse van eplet mismatches zou hebben bijgedragen aan het identificeren van patiënten met een laag immunologisch risico. Deze patiënten hebben dus baat bij celtherapie en het afbouwen van tacrolimus, zonder dat er sprake is van een verhoogd risico op de vorming van donor-specifieke antistoffen.

Tot slot laten we zien dat er bij het gebruik van allogene stamcellen (cellen afkomstig van een donor) een zeer laag risico is op het ontwikkelen van antistoffen die worden opgewekt door de MSC donor en die vervolgens ook tegen de nierdonor gericht zijn. Dit is gunstig voor de toekomst van 'off-the-shelf' cellulaire producten voor toepassing in de transplantatiekliniek.