



## Doctoral Thesis

# **Naturally occurring anti-C3 antibodies and framework-specific anti-idiotypes prolong the life span of erythrocytes from healthy Coombs-positive blood donors**

**Author(s):**

Alaia, Velia

**Publication Date:**

2006

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005293319> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH No. 16861

**Naturally occurring anti-C3 antibodies and framework-  
specific anti-idiotypes prolong the life span of  
erythrocytes from healthy Coombs-positive blood  
donors**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY

for the degree of  
Doctor of Natural Sciences

presented by  
**Velia Alaia**

Laurea in Scienze Biologiche  
Università degli Studi Federico II Napoli, Italia

Born January 14, 1972  
Swiss citizen

Accepted on the recommendation of  
Dr. Hans U. Lutz  
Dr. Beat Frey  
Prof. Dr. Ari Helenius

## 2 Summary

Over the years many blood donation and transfusion centers have found with a prevalence of one in 5000 to 10000 healthy individuals, who were tested positive in the Coombs test. These individuals, called “healthy Coombs-positive blood donors” have red blood cells (RBCs) carrying 2-5 times more IgG than normal senescent RBC. Despite the pathological number of RBC-bound IgG naturally occurring antibodies (NAbs), these Coombs-positive blood donors do not show signs of autoimmune hemolytic anemia. Nevertheless, they are excluded from blood donation. We studied why these RBCs continue to circulate, while normal senescent RBCs with fewer IgG per cell, are cleared from the circulation.

Senescent RBCs from healthy Coombs-positive blood donors carried extra amounts of IgG molecules as compared to old control RBCs. The extra amounts of IgG comprised anti-C3 NAbs and their corresponding framework-specific anti-idiotypes. The density distribution of RBCs from these rare blood donors differed from that of controls with some RBCs having even higher densities than that of the densest cells of controls. A measure of the absolute cell age revealed that these very dense RBCs from healthy Coombs-positive blood donors were even older than the oldest control RBCs, suggesting that they circulate as “overaged” cells. This anomalous behaviour is likely due to the fact that the plasma of healthy Coombs-positive blood donors contained high concentrations of anti-C3/C3b and even higher concentrations of anti-idiotypic NAbs, which associated with C3b or iC3b dimers or C3b<sub>2</sub>-IgG/i C3b<sub>2</sub>-IgG complexes on aged RBCs and prevented the interactions of RBC-bound C3b/iC3b with their receptors on phagocytic cells. Correspondingly, senescent RBCs from healthy Coombs-positive

donors were more readily phagocytosed in vitro than those from controls, because the former RBC carried overall more IgG NAbs than aged control RBCs. On the contrary, physiological concentrations of whole human IgG, which competitively inhibit Fc-receptor mediated phagocytosis, lowered the ingestion of old Coombs-positive RBC to the level or below the level of that observed for senescent control RBCs. Hence, anti-C3 and corresponding anti-idiotypic NAbs down regulate the phagocytosis of RBC from healthy Coombs-positive blood donors and thereby prolonge their life span.

### 3 Sommaro

Negli anni, diversi centri di donazione e trasfusione del sangue hanno trovato, con una prevalenza di uno su 5000-10000, individui sani, ma positivi al test di Coombs. Questi individui, definiti “sani donatori di sangue positivi al test di Coombs”, hanno eritrociti sulla cui superficie portano da 2 a 5 più IgG rispetto a normali senescenti eritrociti. Nonostante il numero patologico di IgG legati agli eritrociti, questi sani donatori di sangue positivi al test di Coombs non presentano alcun segno di anemia emolitica autoimmune. Tuttavia, questi donatori vengono esclusi dal donare il proprio sangue. Noi abbiamo studiato il perché questi eritrociti continuano a circolare, mentre i normali vecchi eritrociti con pochi IgG per cellula scompaiono dalla circolazione sanguigna. I senescenti eritrociti dei sani donatori di sangue positivi al test di Coombs avevano legati una quantità extra di IgG rispetto a normali senescenti eritrociti. Questa quantità extra consisteva in anti-C3 e il suo corrispondente anti-idiotipo specifico della struttura. La distribuzione secondo la densità degli eritrociti provenienti dai sani donatori di sangue positivi al test di Coombs differiva da quella dei controlli avendo alcuni eritrociti con una densità maggiore rispetto alle cellule più dense dei controlli. La misura dell'età cellulare assoluta ha rivelato che questi eritrociti densi dei sani donatori di sangue positivi al test di Coombs erano anche più vecchi degli eritrociti più vecchi dei controlli. Questo aspetto suggerisce che essi circolano come cellule invecchiate in eccedenza. Questo comportamento anomalo è probabilmente legato al fatto che il plasma di questi sani donatori di sangue positivi al test di Coombs conteneva concentrazioni elevate di anti-C3/C3b e concentrazioni ancor più elevate di anti-idiotipi,

i quali associano con dimeri C3b o iC3b o con C3b<sub>2</sub>-IgG complessi sugli eritrociti vecchi e prevengono le interazioni di C3b/iC3b legati agli eritrociti con i loro recettori esposti sui fagociti. Contemporaneamente, gli eritrociti senescenti dei sani donatori di sangue positivi al test di Coombs erano maggiormente fagocitati di quelli dei controlli, poiché i primi avevano più IgG sulla loro superficie rispetto agli eritrociti senescenti dei controlli. Al contrario, concentrazioni fisiologiche di IgG, che inibiscono competitivamente la fagocitosi mediata dai recettori Fc, abbassano l'ingestione dei vecchi eritrociti dei sani donatori di sangue positivi al test di Coombs fino al livello o addirittura al di sotto del livello di quello osservato per i vecchi eritrociti dei controlli. Pertanto, anti C3 e il suo corrispettivo anti-idiotipo abbassano la fagocitosi di eritrociti dei sani donatori di sangue positivi al test di Coombs prolungandone la loro vita.