

ALLO ANTICORPS ANTI-LEUCOPLAQUETTES

PHILIPPE BIERLING*

* *Directeur Général*
EFS. PARIS-Ile de France
Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil .France

ANTIGENES ET ANTICORPS ANTI LEUCOPLAQUETTES

	Plaquettes			PMN		
	Présence	Fréquence AC	Rôle	Présence	Fréquence AC	Rôle
Ag HLA Classe I	+++	+++	+++	++	+++	++
Classe II	-	+	-	-	+	-
Ag ABO	++	++	+	-	++	-
Autres systèmes GR	-	+	-	-	+	-
Ag non spécifiques (Ii, Le, ...)	+	+	??	??	+	??
Ag spécifiques	++	+	+++	++	+	+++

1

ANTIGENES ET ANTICORPS ANTI-HLA

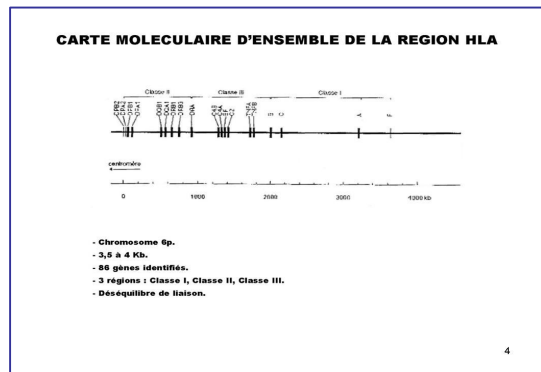
2

**MHC : Major Histocompatibility Complex
HLA : Human Leukocyte Antigens**

Genetic complex coding for very important transplantation products but playing also a role in the immunological organism defence.

- Products able to induce an allogeneic immune response
- Products able to present peptides to the effector cells.

3



MHC : the products

- Glycoproteins expressed on the nucleated cell surface and secreted in the extra-cellular medium
- 3 sorts of products, all corresponding at several allelic series

Antigens	Loci
Class I	A, B, C
Class II	DR, DQ, DP
Class III	C2, BF, C4A, C4B

5

Antigen characteristics

	Class I	Class II
❖ Loci	• A C B	• DR DQ DP
❖ Expression	• Codominant	• Codominant
❖ Distribution	• Ubiquitous (except RBC)	• Restricted (APC, endothelial cell, B Lympho, ...)
❖ Polymorphism	• B>A>C	• DR>DQ>DP
❖ Role	<ul style="list-style-type: none"> • Endogen peptide presentation to T lymphocytes (CD8+) → Activation → cellular lysis • Transplantation antigen 	<ul style="list-style-type: none"> • Exogen peptide (endocytosis) presentation to lymphocytes T (CD4+) → activation/cooperation B Lympho → Humoral response • Immune response antigen • Transplantation antigen
	Immunogenicity ++++	Immunogenicity +/-

6

TECHNOLOGY

- ANTIBODY**
 - ❖ **Screening**
 - Microlymphocytotoxicity $\left\{ \begin{array}{l} \text{T lymphocytes (PBMNC)} \\ \text{B lymphocytes} \end{array} \right.$
 - ELISA
 - ❖ **Identification**
 - Microlymphocytotoxicity $\left\{ \begin{array}{l} \text{T lymphocytes (PBMNC)} \\ \text{B lymphocytes} \end{array} \right.$
 - (ELISA)
- PHENOTYPE**
 - Class I : Microlymphocytotoxicity (PBMNC) (molecular biology)
 - Class II : molecular biology (Microlymphocytotoxicity) (cellular technology : mixed lymphocyte reaction)

7

ROLE DES ALLO ANTICORPS ANTI HLA (CLASSE I)

- ➔ **Pathologies transfusionnelles**
 - Syndrome frissons – hyperthermie
 - Inefficacité de transfusions de plaquettes
 - Inefficacité de transfusions de granulocytes
 - TRALI
- ➔ **Pathologies de greffes**
 - Rejet aigu de greffes de rein
 - (Rôle dans la greffe de cœur, de moelle ? ?)
- ➔ **Autres pathologies**
 - (Avortements à répétition)

8

HLA and Transfusion

- Platelets express HLA class I antigens.
- After non leuco-depleted blood transfusions, pregnancies...
 - ➔ patients can develop anti-HLA class I antibodies leading to platelet transfusion refractoriness

9

PATIENTS REFRACTAIRES AUX TRANSFUSIONS DE PLAQUETTES

- ➔ **Diminution du rendement des transfusions**
 - > Splénomégalie
 - > Fièvre avec sepsis
 - > Drogue
 - > Incompatibilité ABO
- ➔ **Absence de réponse des transfusions**
 - > Maladie véno occlusive / microangiopathie thrombotique
 - > Allo immunisation : - détectée
- non détectée ou indétectable

10

Strategy for finding compatible platelets

- Determine the HLA Class I phenotype of the patient.
- Define acceptable mismatches
 - . 1-2-3... mismatches.
 - . Take into account serological cross-reactions.
- Select HLA Class I compatible donors.

11

COMPATIBILITE DES TRANSFUSIONS VIS A VIS DES ANTICORPS ANTI HLA

RESULTATS

Anticorps	Rendement si incompatibilité	Rendement si compatibilité
LCT standard	- (95 %)	+ (70 %)
LCT standard + LCT sensibilisé	- (95 %)	+ (85 %)
ELISA		??

Certaines transfusions, pourtant compatibles au laboratoire, sont inefficaces et deviennent efficaces lorsqu'elles sont HLA identiques.

12

Hematopoïetic stem cell transplantations ①

- Acute GVHD (and graft failure) are the main complications of hematopoïetic stem cell transplantations that lead to death in 30-50% of the cases.
- Intrafamilial genotypically matched donors and unrelated donors are the source of hematopoïetic stem cells.

ANASETTI and HANSEN, Transfusion Science, 1994, 3: 221-230

13

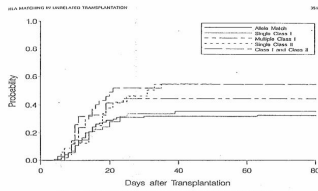
Hematopoïetic stem cell transplantations ②

- Intrafamilial donors
 - ⇨ HLA AB DR DQ DP genotypically matched donors.
- Unrelated donors
 - ⇨ HLA AB DR DQ phenotypically matched donors.

14

Hematopoietic stem cell transplantations with unrelated donors

Petersdorf et al. Blood 1998, 92: 3315-3320



15

Transplantation compatibility ① (organ graft)

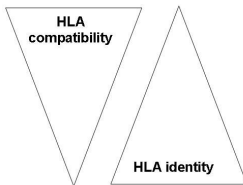
- ❑ HLA « compatible » graft : absence in the recipient sera of antibodies recognizing the donor antigens (Class I or Class II)
- ❑ HLA « identical » graft : HLA identity [HLA A-B-DR-(DQ)] between donor and recipient.
HLA polymorphism prevent this situation in the majority of the case (~99,5%) except in :
 - Intrafamilial situation (1/4 case)
 - A will to match the donor and recipient [among a pool of 1000 recipients, the probability for a 0/1 difference of a donor is 32% (NEJM 1994, 816)]
- ❑ HLA « partially identical » (approaching) : donor and recipient share some identical A, B, DR antigens; the partial identity is measured by the number of « mismatch »

In all cases, the generic HLA specificities are taken into account, when these antigens are biochemically very often different

16

Transplantation compatibility ② (organ graft)

- Hyper acute rejection
- Early acute rejection
- Late acute rejection
- Chronic rejection

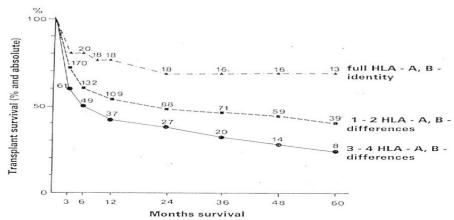


17

Transplantation compatibility ③ (organ graft)

- ❑ The cross-match between recipient sera and donor cells estimates the degree of compatibility.
- ❑ The degree of HLA identity between donor and recipient is estimated by comparison of the HLA ABRD phenotypes (number of mismatches).

18



Dependance of renal graft survival on the match grade for HLA-A and B between donor and recipient (data from Albrechtsen et al. 1981).

Up-dated and more impressive curves (due to the inclusion of the HLA-DR match grade) albeit for only 12 months can be found in Opelz (1988a). The influence of cyclosporin A and blood transfusions is demonstrated in a 12-month curve in Opelz (1987b).

19

PREVENTION DE L'IMMUNISATION HLA

Déleucocytation des PSL (CGR et CP) pour obtenir des produits avec moins de 10^8 leucocytes.

Dans ces conditions :

1. Absence d'immunisation de NOVO
2. Possibilité de réactivation d'immunisation ancienne (grossesses)

20

ANTIGENES ET ANTICORPS SPECIFIQUES DE LA PLAQUETTE

21

POLYMORPHISMS RESULTING IN HUMAN PLATELET ANTIGENS (HPAs)

SYSTEMS	GLYCOPROTEIN	CD	ANTIGEN	ORIGINAL NAMES	NUCLEOTIDE CHANGE	MATURE PROTEIN
HPA-1	GP1IIa	CD61	HPA-1a-1b	Zw, PLA	176T>C	L33P
HPA-2	GP1Ib α	CD42b	HPA-2a-2b	Ko, Sib	482C>T	T145M
HPA-3	GP1Ib	CD41	HPA-3a-3b	Bak, Lek	2821T>G	I843S
HPA-4	GP1IIa	CD61	HPA-4a-4b	Yuk, Pen	506G>A	R143Q
HPA-5	GPIIa	CD49b	HPA-5a-5b	Br, Zav, Hc	1600G>A	E505K
HPA-6w	GP1IIa	CD61	HPA-6bw	Ca, Tu	1544G>A	R489Q
HPA-7w	GP1IIa	CD61	HPA-7bw	Mo	1287C>G	P407A
HPA-8w	GP1IIa	CD61	HPA-8bw	Sfr	1984C>T	R639C
HPA-9w	GPIIb	CD41	HPA-9bw	Max	2802G>A	V837M
HPA-10w	GP1IIa	CD61	HPA-10bw	La	263G>A	R82Q
HPA-11w	GP1IIa	CD61	HPA-11bw	Gre	1976G>A	R633H
HPA-12w	GPIIb β	CD42c	HPA-12bw	Jy	119G>A	G15E
HPA-13w	GPIa	CD49b	HPA-13bw	Sit	2483C>T	T799M
HPA-14w	GP1IIa	CD61	HPA-14bw	Oe	1909_1911delAAG	K611del
HPA-15	CD109	CD109	HPA-15a-15b	Gov	2108C>A	S882Y
HPA-16w	GP1IIa	CD61	HPA-16bw	Duv	497C>T	T140I

22

ALLO ANTICORPS ANTIPLAQUETTES

➔ L'apparition d'un allo anticorps après transfusion ou grossesse incompatible est un phénomène rare.

Anticorps les plus fréquents :

- HPA 1a (PLA₁)
- HPA 1b (PLA₂)
- HPA 5b (B⁷)
- HPA 15a (GOVa)

➔ Rôle des anticorps antiplaquettes

Pathologies transfusionnelles :

- ➔ frissons hyperthermie
- ➔ inefficacité transfusionnelle des transfusions de CP
- ➔ purpura post-transfusionnel
- ➔ thrombopénie par transmission passive

Chimérismes post-greffe

Thrombopénies néo-natales

23

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE - LES TECHNIQUES

1 - TEST DIRECT ("COOMBS DIRECT PLAQUETTAIRE" : PAIgG, M, AVIF - Radioactif)

- La quantité d'IgG plaquettaire "membranaires" est le reflet du contenu en IgG des granules alpha, lui-même proportionnel aux IgG sériques.
- PAIgG présents dans 85 à 95% des cas (quelquefois IgM)

2 - TEST INDIRECT

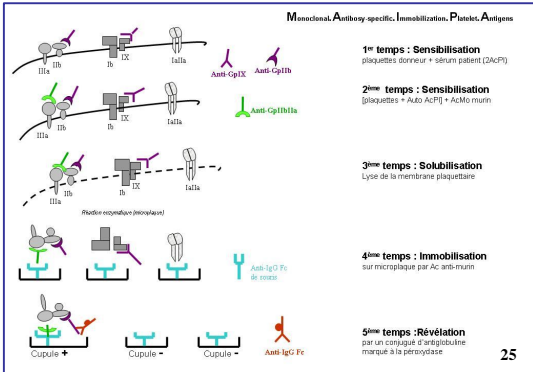
SEROLOGIQUE (IF, Radioactif, ELISA, ...):

- Pas toujours spécifique de la cellule
- Peuvent reconnaître de protéines cytoplasmiques
- Ne différencient pas Auto AC et CIC
- ➔ IgG sériques à activité antiplaquettes : 50% des cas : spécificité ???

IMMUNOCHEMIE (Cible Antigénique) : MAIPA et DERIVES

- Positif dans = 25% des cas
- Spécifique

24



THROMBOPENIES NEO NATALES DUES AUX ALLO ANTICORPS ANTI PLAQUETTES

- Fréquence :** - 1/3000 grossesses
- 10 à 25 % des thrombopénies fœtales et/ou néonatales
- Mécanisme :** Passage transplacentaire d'un allo anticorps antiplaquettes
- Cause :** Anti HPA 1a (PLA₁)
(Anti HPA 5b - Bra)
- Symptomatologie :** - purpura cutanéomuqueux (60 %)
- hémorragies vicéérales (30 %)
- hémorragie cérébro-méningée (fœtales ou néonatales)
- séqueilles neurologiques +++
- Diagnostic :** - anti-plaquettes
- phénotypes plaquettaire (père et mère) (cross match)
- phénotype HLA
- Traitement :** - préventif
• ponction in utero
• traitement de la mère (IgG ± stéroïdes)
- curatif
• transfusions compatibles (mère)
• IgG, CS, Exsanguine transfusion
- 26

ANTIGENES ET ANTICORPS SPECIFIQUES DES PMN

27

NEUTROPHIL ANTIGEN NOMENCLATURE

CLASSIC NOMENCLATURE		ISBT NOMENCLATURE		ANTIGEN LOCATION	
SYSTEM	ANTIGEN	SYSTEM	ANTIGEN	GLYCOPROTEIN	CD NUMBER
NA	NA1	HNA-1	HNA-1a	Fc-RIIb	CD16
NA	NA2	HNA-1	HNA-1b	Fc-RIIb	CD16
SH	SH	HNA-1	HNA-1c	Fc-RIIb	CD16
NB	NB1	HNA-2	HNA-2a	58-64 kD gp	CD177
5	5b	HNA-3	HNA-3a	70-95 kD gp	Not known
Mart	Mart	HNA-4	HNA-4a	CR3	CD11b
Ond	Ond	HNA-5	HNA-5a	LFA-1	CD11a

28

DETECTION DES ANTICORPS ANTIGRANULEUX LES TECHNIQUES

- GRANULO AGGLUTINATION

- GRANULO FLUORESCENCE

- MAIGA

29

ANTICORPS ANTI GRANULEUX

➔ L'apparition d'anticorps antigranuleux après transfusions ou grossesses incompatibles est très rare.

➔ Anticorps les plus fréquents : HNA 1a et 1b, HNA 2a, HNA 3a

➔ Rôle des anticorps antigranuleux

Pathologies transfusionnelles :

- ➔ Frissons hyperthermie
- ➔ Inefficacité transfusionnelle des transfusions de CUG
- ➔ TRALI

Neutropénies néonatales

30

" TRALI "
Transfusion Related Acute Lung Injury

Détresse respiratoire aiguë associée à un œdème pulmonaire bilatéral (non cardiogénique) et une hypoxémie, 1 à 2 heures après la transfusion de produit sanguin contenant du plasma.

Tous les PS peuvent être incriminés.

Fréquence ? - < 100 cas publiés

- 1 cas sur 300 à 5000 produits transfusés (GB)
- 3^{ème} cause de décès associé à la transfusion

Evolution Favorable 80 % Décès 5 à 20 %

31

MECANISME IMMUNOLOGIQUE

- . Cellule effectrice : PNM
 - . Anticorps anti-HLA classe I ou anti-granuleux
- Receveur + DONNEUR +++
- . Complément

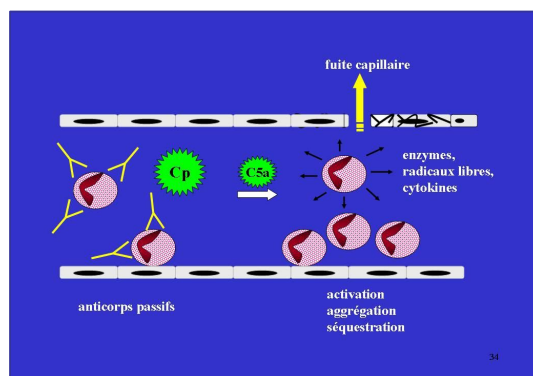
32

QUESTIONS NON RESOLUES

- . Absence d'anticorps dans plus de 15 % des cas
- . Spécificité plus large des anticorps en cause anti-HLA classe II
 Kopko, Transfusion 2001
- . La présence d'un anticorps incompatible avec le receveur n'entraîne pas toujours une réaction de type TRALI

Gradient de gravité ? Autre mécanisme ?

33



34