

SOFFOET 21/06/2019  
C GIANNOLI



## ALLO-IMMUNISATION ANTI-HLA / HPA ET GROSSESSE

# POLYMORPHISME HUMAIN

- 1900 : groupe sanguin **ABO** (Landsteiner)
- 1958 : antigènes **HLA** du C.M.H. (Dausset, prix Nobel)
- 1959 : 1ère identification d'allo-anticorps anti-plaquettes  
**Ac anti-PLA1**
- 1987 : mise au point de la technique M.A.I.P.A. (Kiefel)  
technique de référence pour la recherche d'Ac anti-plaquettes  
1er kit commercialisé depuis 2012
- 1988 : découverte du groupe HPA-5
- 1990 : **nomenclature HPA (human platelet antigen)**

# CMH

## COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ

= Système multigénique situé sur le chromosome 6  
comprend des **gènes hautement polymorphes**,  
**codant pour des molécules HLA** (Human Leucocyte Antigen),  
**liant des peptides reconnus par les lymphocytes T**

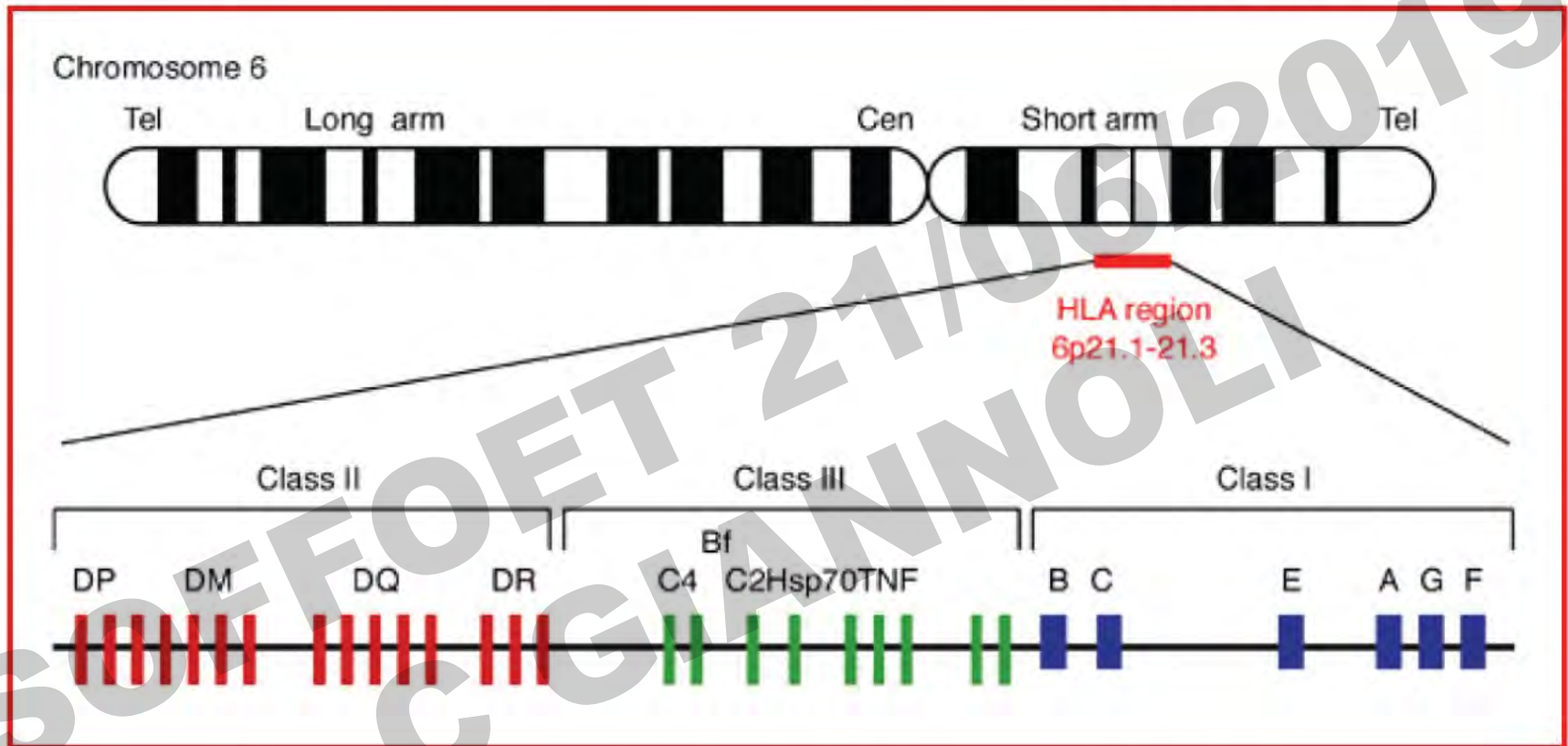
(Sentinelles dans l'organisme pour lutter contre les agressions extérieures de tous types : bactéries, virus, cellules étrangères mais aussi les cellules cancéreuses )

→ *Identité HLA entre 2 individus : > 1 chance sur 1 000 000*

→ *Fort pouvoir immunogène :*

*CMH : principal système déterminant la prise ou le rejet d'allogreffes  
(groupe HLA = groupe des tissus)*

# CMH : LES GÈNES HLA

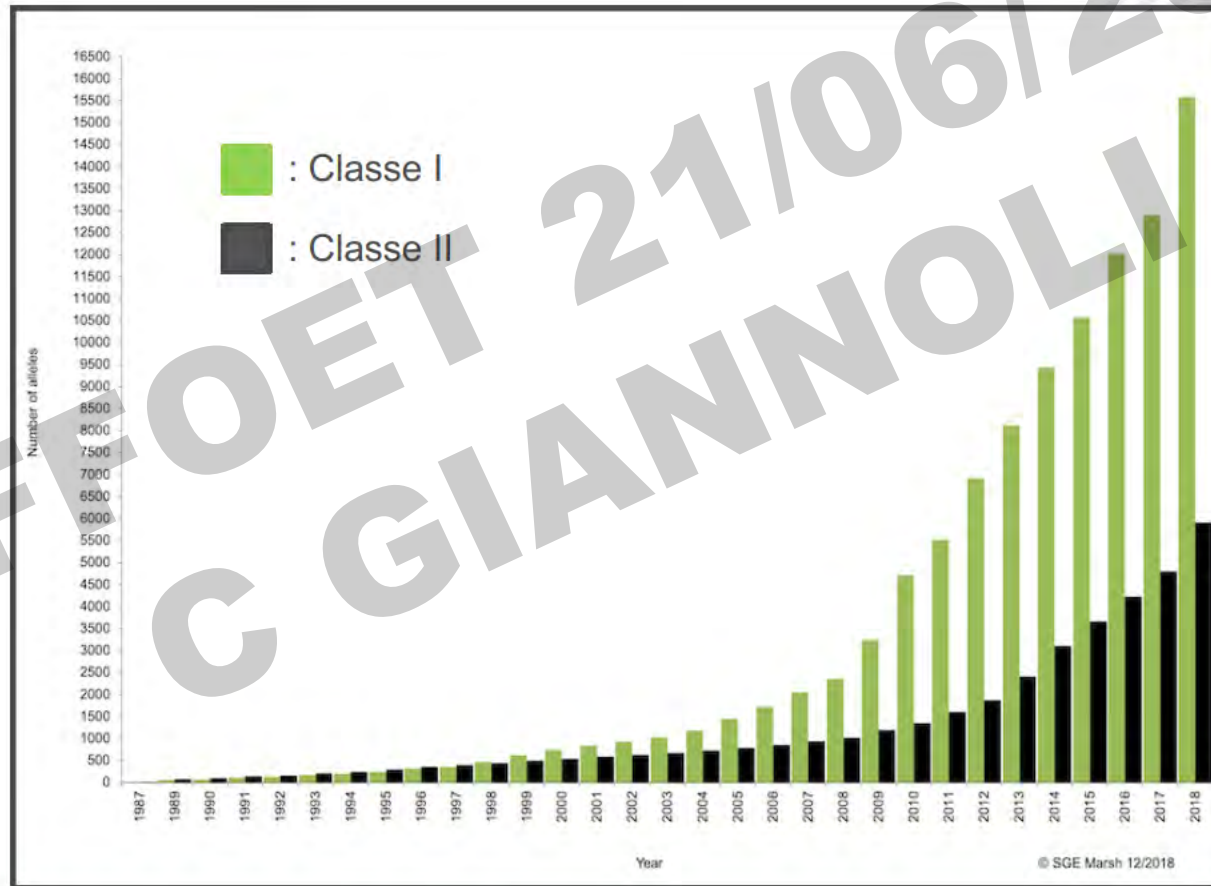


Molécules HLA classiques : A B C DR DQ DP très polymorphes et immunogènes

non classiques : E **G** F peu polymorphe

# Polymorphisme du système HLA

Plus de 20 000 allèles (classe I et classe II confondues) connues en 2018!



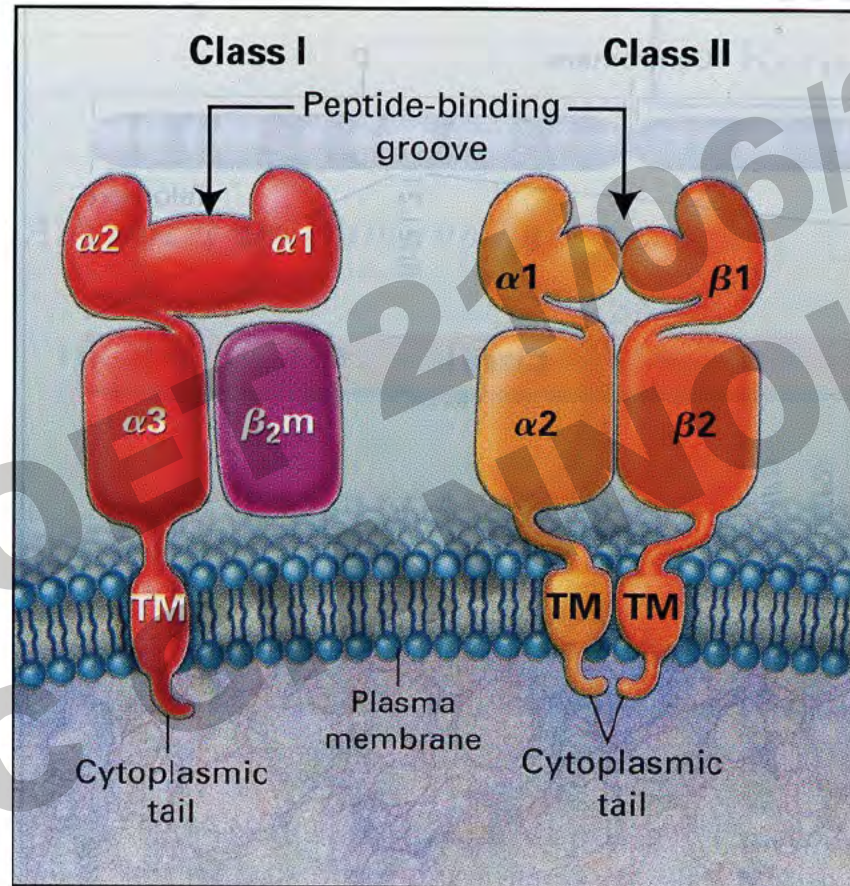
# Molécules HLA

**HLA de classe I**  
HLA-A HLA-B HLA-C

Chaîne  $\alpha$  liée de manière non covalente à la  $\beta_2$  microglobuline

Domaines  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  variables

Domaine  $\alpha_3$  constant =  
site de liaison au coR **CD8**



**HLA de classe II**  
HLA-DR HLA-DQ HLA-DP

Domaines  $\alpha_1$  et  $\beta_1$  variables  
Domaines  $\alpha_2$  et  $\beta_2$  constants

Domaines  $\beta_2$  =  
site de liaison du coR **CD4**

protéines membranaires contenant un site de liaison au peptide en forme de gouttière à leur extrêmité aminoterminal d'expression codominante

# LOCALISATION DES MOLÉCULES HLA

## → Molécules HLA de classe I

exprimés sur la majorité des cellules nucléées et sur les plaquettes

## → Molécules HLA de classe II

exprimés sur les cellules présentatrices d'Ag (cellules dendritiques, macrophages, lymphocytes B), lymphocytes T activés, précurseurs hématopoïétiques, cellules endothéliales, cellules épithéliales thymiques

## → Placenta

Interface entre la mère et fœtus (ST et CT des villosités) :

pas d'expression des Ag HLA-A et B,

faible expression des Ag HLA-C et forte expression des molécules HLA-E et G (membranaire et soluble) au niveau du cytotrophoblaste.

*Augmentation de l'expression membranaire en cas de stress cellulaire, d'inflammation*

# FONCTIONS DES MOLÉCULES HLA

## → Constitution du répertoire des lymphocytes T

Lymphocytes T immatures produits dans la moelle osseuse →  
éducation dans le thymus : lymphocytes T matures

## → Présentation des Ag peptidiques aux lymphocytes T

les peptides dérivés d'Ag protéiques sont présentés par les molécules HLA des cellules présentatrices de l'Ag aux lymphocytes T spécifiques de ces Ag : c'est le phénomène de restriction du répertoire des lymphocytes T par le CMH du soi

→ Mise en œuvre de la réaction immunitaire

→ absence de molécule HLA = déficit immunitaire mortel

## → Ligands des molécules KIR des cellules NK

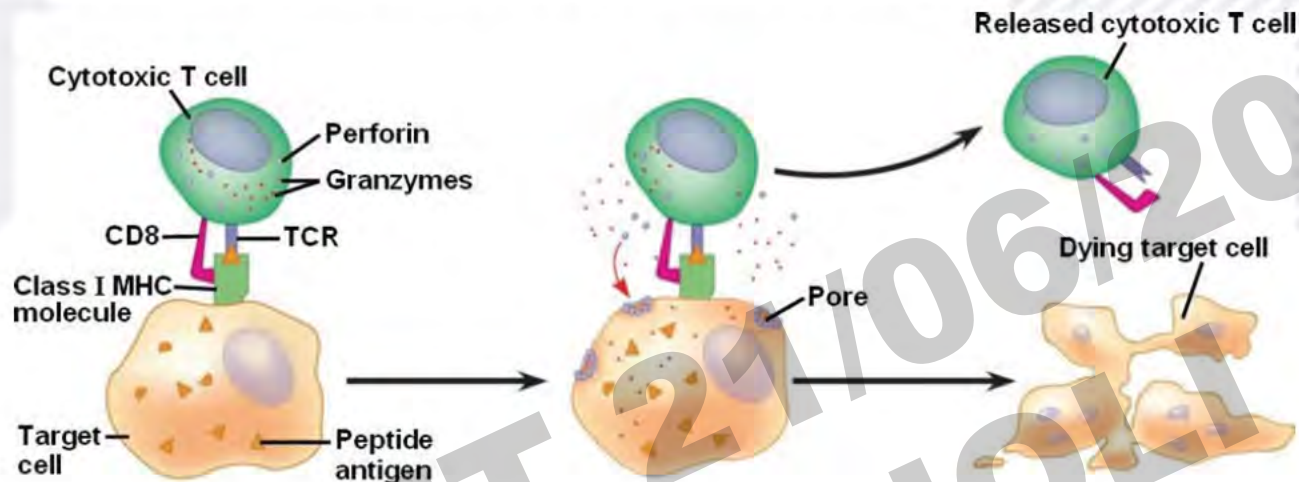
récepteurs KIR inhibiteurs / KIR activateurs  
certaines molécules HLA de classe I notamment les C

## → Rôle tolérogène des Ag HLA cl I non classique

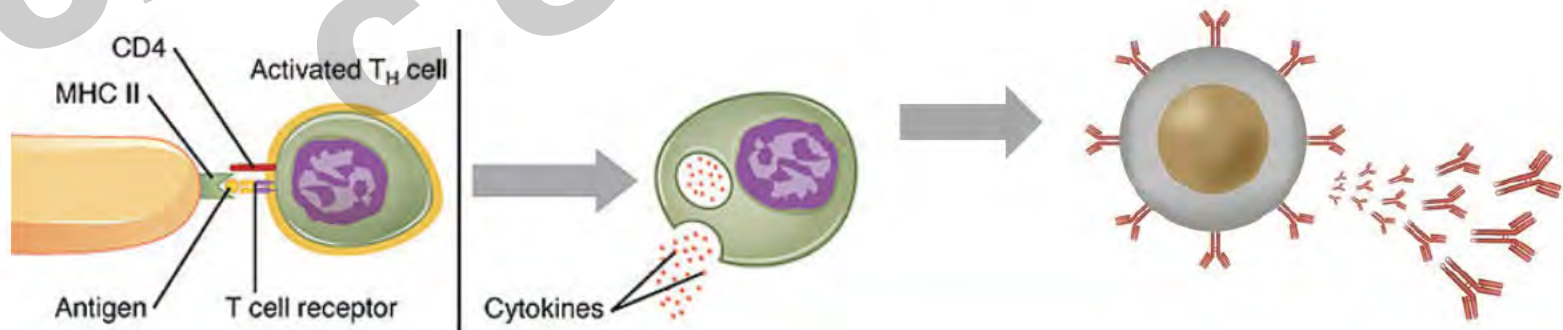
HLA-G inhibe les effecteurs allogéniques : lymphocytes B, T, cellules NK et APC



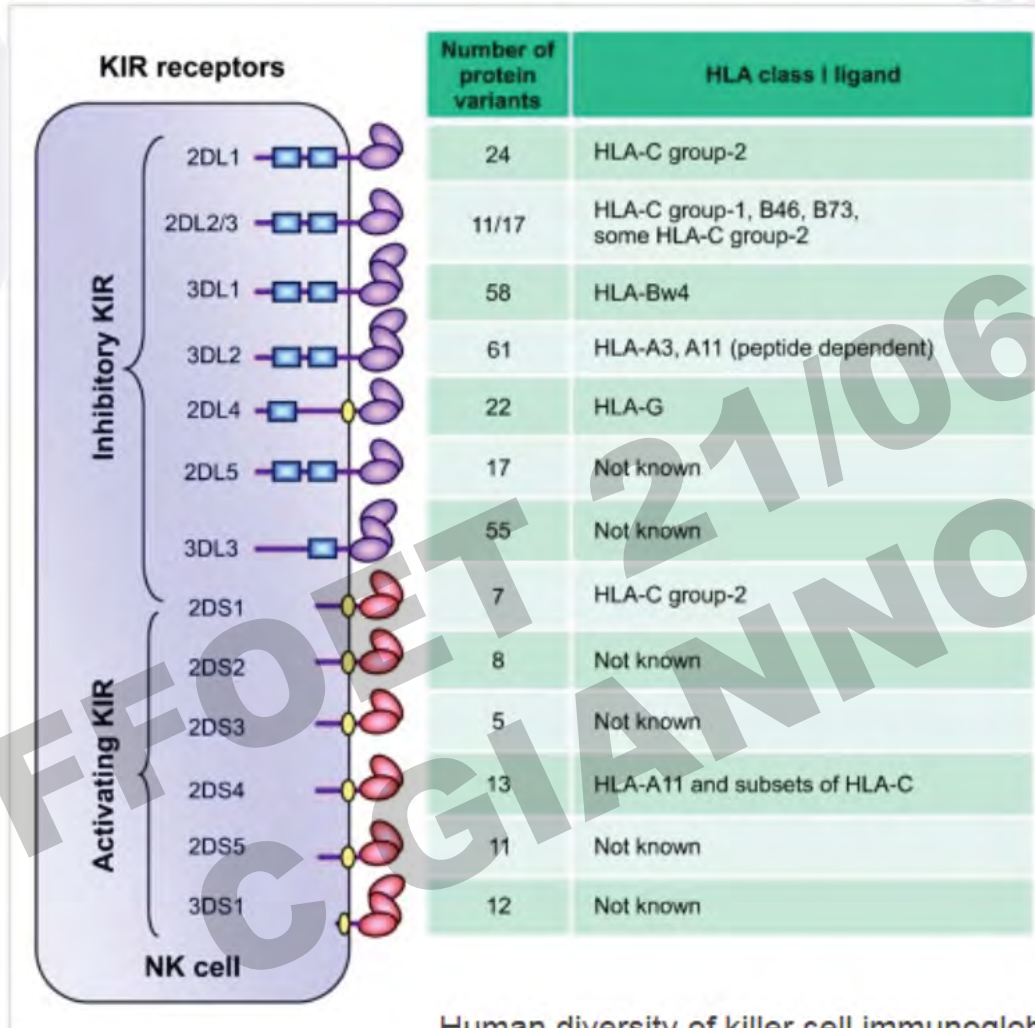
## Activation des lymphocytes T = réponse cellulaire médiée par les lymphocytes T cytotoxiques



## Activation des lymphocytes B = réponse humorale médiée par les anticorps



# LIGANDS DES MOLÉCULES KIR DES CELLULES NK



Human diversity of killer cell immunoglobulin-like receptors and disease.

Rajalingam R - [The Korean journal of hematology](#) (2011)

# CIRCONSTANCES D'APPARITION DES ALLO-AC ANTI-HLA

*Les Ac ne sont pas présents naturellement : anticorps immuns*

↪ **Grossesse:** développement des Ac anti-HLA classe I et II contre les Ag HLA d'origine paternelle portés par le fœtus

Résultats sur 2000 donneuses testées au laboratoire à distance des grossesses

résultats positifs pour 37 % (29 % en classe I / 35 % en classe II / 36 % en classe I et II)

donneuses avec 1 parité = 33 %      2 parités = 37 %      3 parités ou + = 41 %

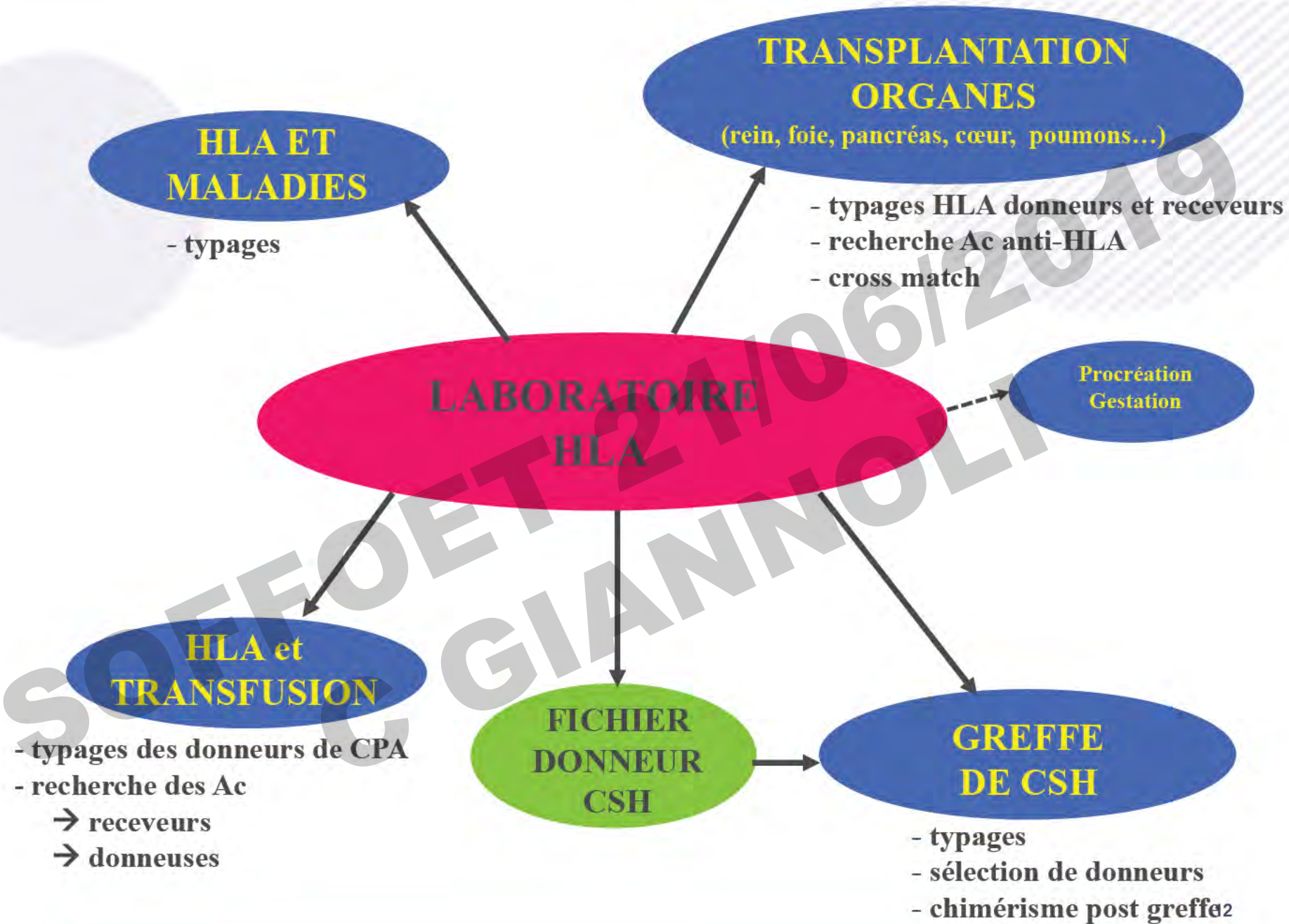
↪ **Transfusions:** allo-immunisation liée à la présence dans les PSL

des leucocytes

des plaquettes (Ag HLA de cl I)

↪ **Transplantation d'organes:** Ag HLA de classe I et II portés par le greffon susceptible de provoquer une immunisation chez le receveur

↪ **Greffe de CSH**



# GROUPES HPA

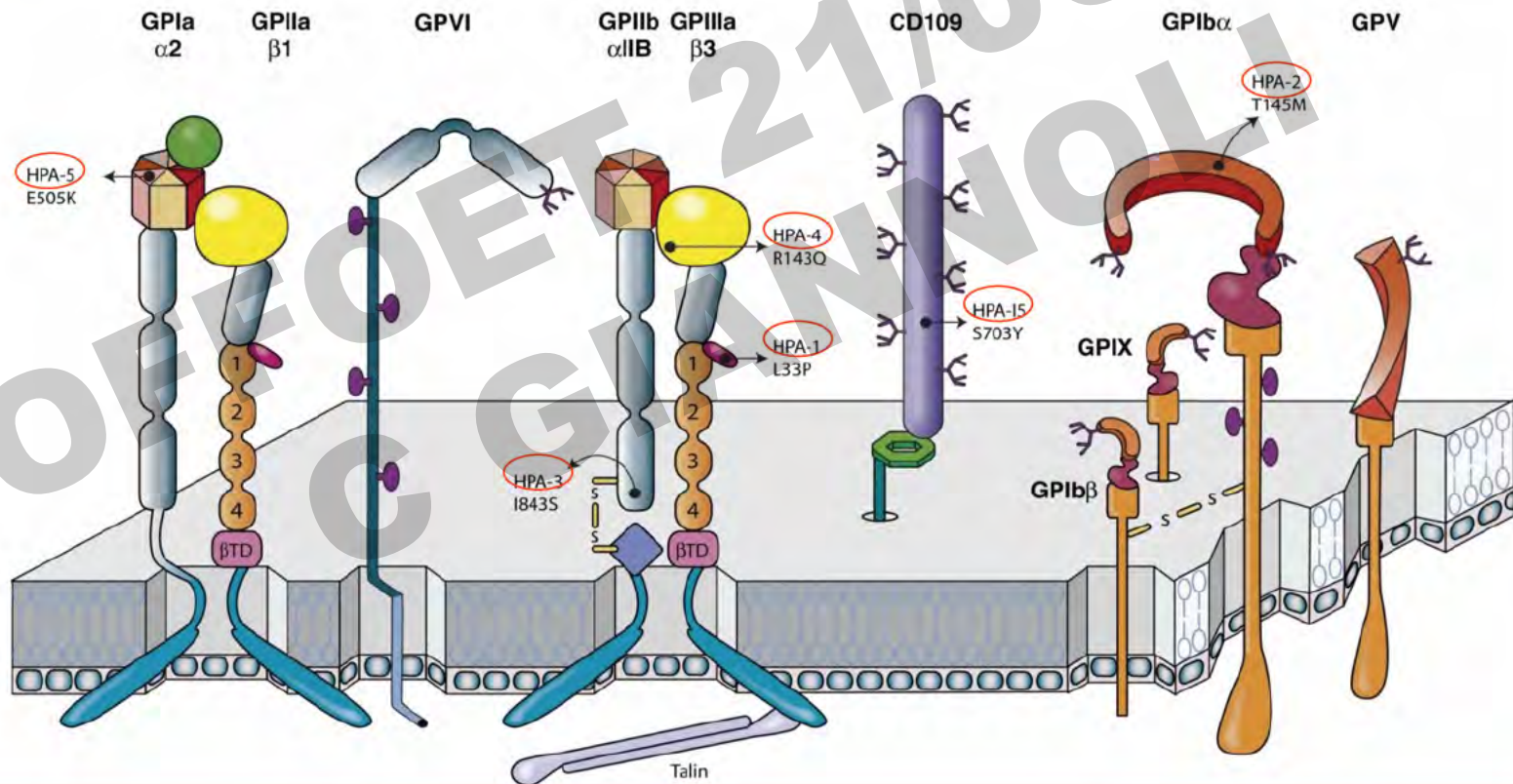
33 groupes HPA, 6 bien définis (HPA-1 à 5, 15)

➤ localisés sur les glycoprotéines membranaires plaquettaires

GPIIb/IIIa (HPA-1, 3, 4, 6...) GPIIb/IIIa (HPA-5...) GPIbIX (HPA-2,12) CD109 (HPA-15)

➤ système bi-allélique (mutation d'une base) : « a » haute fce / « b » basse fce

➤ Niveaux d'expression différents : GP IIb/IIIa fort, CD109 variable





# ANTICORPS ANTI-PLAQUETTES

## ➔ Allo-anticorps essentiellement immuns

Grossesse / transfusions / greffes

## ➔ Technique de référence M.A.I.P.A. : IgG seulement, peu sensible

- MAIPA direct : auto-Ac fixés, le plus souvent sur la GP IIb/IIIa
- MAIPA Indirect : allo-Ac anti-HPA et HLA de classe I

## ➔ Bilan d'IFM

- Recherche d'anticorps chez la mère (auto et allo)
- Test de compatibilité avec les plaquettes du père :  
plaquettes du NN QI et test permettant d'identifier des Ac rares
- Groupages HPA
- Contrôle 1 mois après l'accouchement (risque de faux négatif en cours de grossesse)

# IMPACT CLINIQUE DES ANTICORPS SUR LA GROSSESSE

- **Passage transplacentaire des Ig G :**
  - À partir de 13 SA
  - Augmente au cours de la grossesse avec processus actif en fin de grossesse
  - IgG1 > IgG4 > IgG3 > IgG2
- **Impact des anticorps chez le fœtus en cas d'IFM :**
  - **Thrombopénie foetale / néonatale :**
    - HPA : potentiellement grave → MFIU / HIC
    - rarement HLA de classe I (+ leucopénie associée) :  
immunisation fréquente en général sans impact (Ac se fixant sur toutes les cellules de l'enfant )
      - auto-Ac antiplaquettes moins grave
- **Impact des anticorps sur le placenta : très mal connu**  
Rôle de l'immunité cellulaire : lympho T / cell NK ??



# THROMBOPENIE FOETALE ET NEONATALE ALLO-IMMUNE

La thrombopénie fœtale et néonatale allo-immune est :

une pathologie dont la fréquence est estimée, entre **1/800** et **1/1000** naissances d'enfant vivant

*estimation difficile car pas d'hémogramme systématique chez le nouveau-né*

majoritairement due à **une allo-immunisation maternelle anti-HPA-1a**, pour les cas les plus graves

**HPA = human platelet antigen**

**Pour les obstétriciens et les pédiatres, plusieurs difficultés :**

- pathologie mal connue (confusion entre auto et allo-immunisation)
- pas de registre national de ces incompatibilités foetomaternelles

**mais**

- centres de référence commençant à se mettre en place dans les CHU
- Groupe de travail du GFHT :

proposition d'un protocole pour la prise en charge des TNN et des grossesses suivant le cas index de ces IFM

# THROMBOPENIE FOETALE ET NEONATALE ALLO-IMMUNE

- **Circonstances d'apparition des anticorps :**  
grossesse (possible dès la 1ère grossesse), transfusion ...
- **Conséquences chez le fœtus : thrombopénie**  
Ac IgG passant la barrière placentaire à partir de 13 SA  
conflit contre l'Ag transmis par le père (exprimés entre 15 et 18 SA)  
95 % Ac anti-HPA : anti-HPA-1a = 75 à 80 %  
anti-HPA-5b = 15 à 18 %  
anti-HPA-5a, 3a... ?? 15a, 15b,  
3 à 5 % Ac anti-HLA de classe I ??

## **Incidence des Ac anti-HPA-1a en cours de grossesse :**

2,5 % femmes HPA-1a négatives dont 15 % avec Ac anti-HPA-1a

→ 25 % de risque de thrombopénie foetale/néonatale (étude de 2009)

**Incidence = 1 / 1050** (10 % d'hémorragies profondes)

# THROMBOPENIE FOETALE ET NEONATALE ALLO-IMMUNE

## ■ Diagnostic clinique :

### ■ Hémorragies

- symptômes seulement si thrombopénie grave ( $< 35$  G/l), pouvant s'aggraver pendant 3 à 5 jours après la naissance  
→ numération plaquettaire systématique ? sur sang de cordon ?

- CP du foetus : diagnostic échographique

### ■ RCIU rare

## ■ Diagnostic biologique :

### ■ Numération plaquettaire

- Recherche des Ac anti-plaquettes chez la mère + test de compatibilité avec les plaquettes du père

*si négative, contrôler 1 mois après l'accouchement*

- Groupage plaquettaire : mère + nouveau-né + père

CP du foetus : groupage plaquettaire possible sur cellules amniotiques / villosités choriales et à venir ADN foetal libre dans sang maternel

# PRISE EN CHARGE D'UNE NOUVELLE GROSSESSE POUR UNE MÈRE IMMUNISÉE HPA-1A

## ■ Evaluation du risque de conflit avec le fœtus

.Père homozygote : HPA-1(a+b-) → risque 100 %

.Père hétérozygote : HPA-1(a+b+) → risque 50%

Indication de **groupage plaquettaire foetal**

sur cellules amniotiques / villosités choriales et à venir ADN foetal libre dans sang maternel

## ■ Prise en charge d'un conflit avéré

.Mise en place d'un traitement immunomodulateur

■ Perfusion hebdomadaire IgIV (début à 16-22 SA jusqu'en fin de grossesse)

■ +/- CS (à partir de 30-32 SA)

.Accouchement programmé entre 37-39 SA si réservation de plaquettes compatibles pour le nouveau-né (+/- mère)

PS : nécessité de bien identifier les Ac anti-HPA et anti-HLA de classe I dans le mois précédent

.Numération plaquettaire du nouveau-né

# THROMBOPENIE AUTO-IMMUNE CHEZ LA FEMME ENCEINTE

## ■ **Prise en charge spécifique :**

- présence d'auto-Ac antiplaquettes de type IgG chez la mère
- purpura thrombopénique auto-immun (1-2% des femmes enceintes), LED...
- Diagnostic différentiel : thrombopénie gestationnelle

## ■ **Conséquence chez le fœtus :**

### **thrombopénie habituellement modérée**

- 40 % de TNN
- 10% TNN sévère (<50 G/l)
- HIC ? (0 à 1%)
- Nadir de la TNN entre J2-J5

# IMPACT CLINIQUE DES ANTICORPS FAUSSE SUR LE PLACENTA

- **Ac anti-HLA cl I et II** (J Lee et al, 2011 et 2013)  
atteinte inflammatoire chorio-amniotique chronique  
= rejet  
prématurité  
→ Comment prédire ?
- **Ac anti-HLA-C**  
Pré-éclampsie, FC à répétition (SE Hiby et al, 2010)  
FC à répétition (T Meuleman et al, 2016)  
*+ rôle des NK (choix des donneurs en fonction des groupes KIR et de leurs ligands chez le père et la mère)*
- **Ac anti-HPA**



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Placenta

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/placenta](http://www.elsevier.com/locate/placenta)

## Placental histological lesions in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: A retrospective cohort study of 21 cases

Estelle Dubruc<sup>a</sup>, Frédérique Lebreton<sup>a</sup>, Catherine Giannoli<sup>b</sup>, Muriel Rabilloud<sup>c</sup>, Cyril Huissoud<sup>d</sup>, Mojgan Devouassoux-Shisheboran<sup>a</sup>, Fabienne Allias<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Centre de pathologie Nord, Hôpital de la Croix-Rousse, 103 Grande Rue de la Croix-Rousse, 69317 Lyon Cedex 04, France

<sup>b</sup> Laboratoire HLA/HPA, EFS Lyon-Gerland, France

<sup>c</sup> Service de Biostatistique, Hospices Civils de Lyon, F-69003 Lyon, France

<sup>d</sup> Service d'Obstétrique, Hôpital de la Croix-Rousse, 103 Grande Rue de la Croix-Rousse, 69317 Lyon Cedex 04, France

# IFM HPA : peu d'articles sur histologie du placenta

-> RCIU pouvant entraîner une MFIU

- [2] J. Althaus, E.G. Weir, F. Askin, T.S. Kickler, K. Blakemore, Chronic villitis in untreated neonatal alloimmune thrombocytopenia: an etiology for severe early intrauterine growth restriction and the effect of intravenous immunoglobulin therapy, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 193 (2005) 1100–1104.
- [3] H. Tiller, M.K. Killie, A. Husebekk, B. Skogen, H. Ni, J. Kjeldsen-Kragh, et al., Platelet antibodies and fetal growth: maternal antibodies against fetal platelet antigen 1a are strongly associated with reduced birthweight in boys, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 91 (2012) 79–86.



# RÉSULTATS

21 FNAIT

9 HPA-1a / 6 HPA-5b / 1 HPA-3a / 5 HPA-15b

Placental abnormalities in FNAIT versus control groups

chronic inflammatory lesion	FNAIT n = 21 n (%)	Control n = 42 n (%)	odds ratio	95% confidence interval	p value
CC	7(33.3)	1(2.4)	14	1.7–113.8	0.004
CV	6(28.6)	4(9.5)	3.7	0.9–15.2	0.126
BCV	10(47.6)	4(9.5)	17	2–145.6	0.002
CD	4(19)	2(4.8)	4.7	0.79–28.2	0.112
CI	6(28.6)	0			0.002
Total	18(85)	7(16.7)	14.5	3.1–66.9	0.001

CC: chronic chorioamnionitis; CV: chronic villitis; CD: chronic deciduitis; CI: chronic intervillitis; FTV: fetal thrombotic vasculopathy; AC: acute chorioamnionitis.

## DISCUSSION

- Lésions inflammatoires chroniques du placenta significativement associées à FNAIT
- pas plus de RCIU mais biais possible (étude du placenta en raison de signes cliniques, présence d'Ac anti-HLA associés fréquente)
- Expression sur les cellules endothéliales des GP IIIa, GP Ia et CD 109
- BCV plus spécifique que CV : 30% de lymphocytes B dans l'infiltrat cellulaire, plasmocytes souvent présents à la base des villosités
- CIV : probablement liée à un conflit immunologique mère/enfant (dans la littérature)
- CC : signe d'allo-immunisation

## DISCUSSION

### ↪ Lésions inflammatoires chroniques du placenta :

- Conflit Ac-Ag (ADCC, CIC)

- Activation plaquettaire :

adhérence au trophoblaste + production de médiateurs pro-inflammatoires

### ↪ Lien entre type de lésions placentaires et spécificités Ac /gravité atteinte foetale

BCV + fréquent avec anti-HPA-15b ?

CIV + fréquent avec anti-HPA-1a ?

BCV de mauvais pronostic ?

# CONCLUSION

- ↪ 1ère étude rétrospective démontrant une augmentation significative des lésions inflammatoires chroniques du placenta en cas de FNAIT
- ↪ Nécessité d'études plus larges pour analyser les liens :
  - spécificités Ac et lésions placentaires
  - lésions placentaires et pronostic clinique

# COÛT DES ANALYSES

Exploration d'une thrombopénie néonatale , recherche d'une incompatibilité materno-foetale :			
<b>1) Recherche d'anticorps anti-plaquette chez la mère en MAIPA</b>			
- Recherche d'anticorps anti-plaquettes HPA fixés (MAIPA Direct)	* 5 jours	1479x3	B 100x3
- Recherche d'anticorps anti-plaquettes circulants anti-HPA-1,2,3,5 (MAIPA Indirect)		0162x3	B 100x3
- Recherche d'anticorps anti-plaquettes circulants anti-HPA-15 à titre de recherche	* 10 jours	0162	B 100
- Identification d'anticorps anti-plaquettes circulants :			
GP IIbIIIa pour les Acs anti-HPA-1 et 3 / GP Ialla pour les Acs anti-HPA-5		0163 par GP testée	B 300 par GP
GP IbIX pour les Acs anti-HPA-2 / CD109 pour les Acs anti-HPA-15	* 5 jours	0162	B 100x3
<b>2) Epreuve de compatibilité du plasma/serum maternel sur les plaquettes du père : Cross Match plaquettaire (MAIPA Indirect)</b>		0160x4	B 200x4
<b>3) Typage plaquettaire HPA-1, 2, 3, 5, 15 en SSP de la mère, du père et de l'enfant</b>			

HPA : 891 euros (3300 B)

recherche d'anticorps chez la mère : 243 euros (+/- 81 euros si identification)

groupages mère / père / nn : 3 x 216 = 648 euros

HLA : les Ac anti-HLA de classe I peuvent être dépistés par la recherche d'anticorps anti-plaquettes

examens hors nomenclature

recherche d'anticorps = dépistage 54 euros +256,50 euros pour identification → technique sensible +++

Groupage HLA-A et B = 135 euros x3 = 405 euros