



HLA ET TRANSFUSION

Qu'est-ce que le système HLA ?

- Ensemble de molécules (glycoprotéines) situées sur la membrane de toutes les cellules nucléées de l'organisme.
- Découvert par Jean Dausset en 1958 (prix Nobel en 1980)
- HLA = Human Leucocyte Antigen
- On parle de système HLA ou de Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH)
- On distingue :
 - Les molécules (ou antigènes) de classe 1 : A, B, C
 - Les molécules (ou antigènes) de classe 2 : DR, DQ, DP
- Chaque individu possède ainsi 6 x 2 Ag HLA « majeurs » : 2 A, 2 B, 2 C, 2DR, 2 DQ, 2 DP
- Le groupe HLA « classique » comporte les antigènes A, B, DR, DQ :
 - Ex : A2,3; B7,8; DR1,7; DQ5,2

MOLECULE

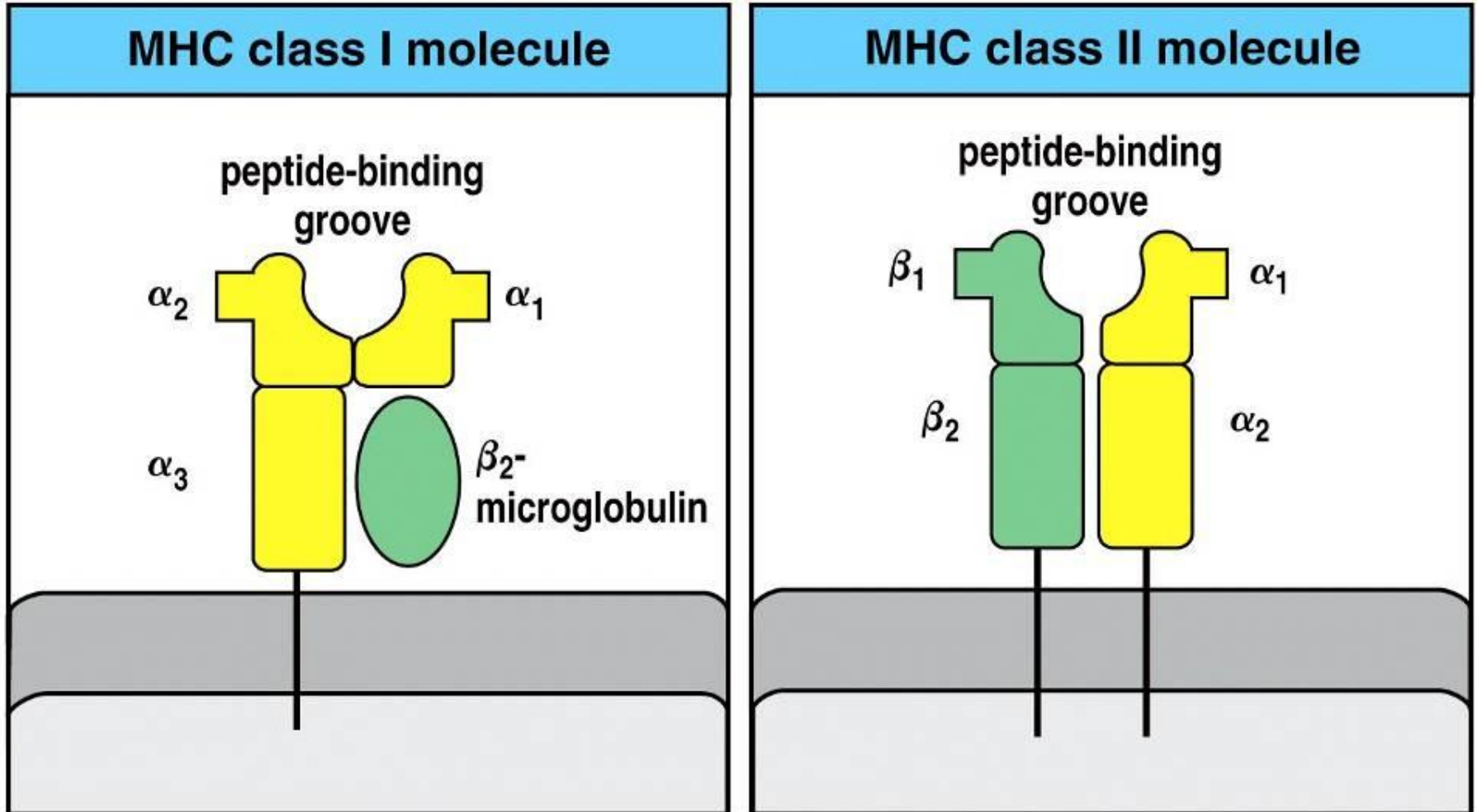
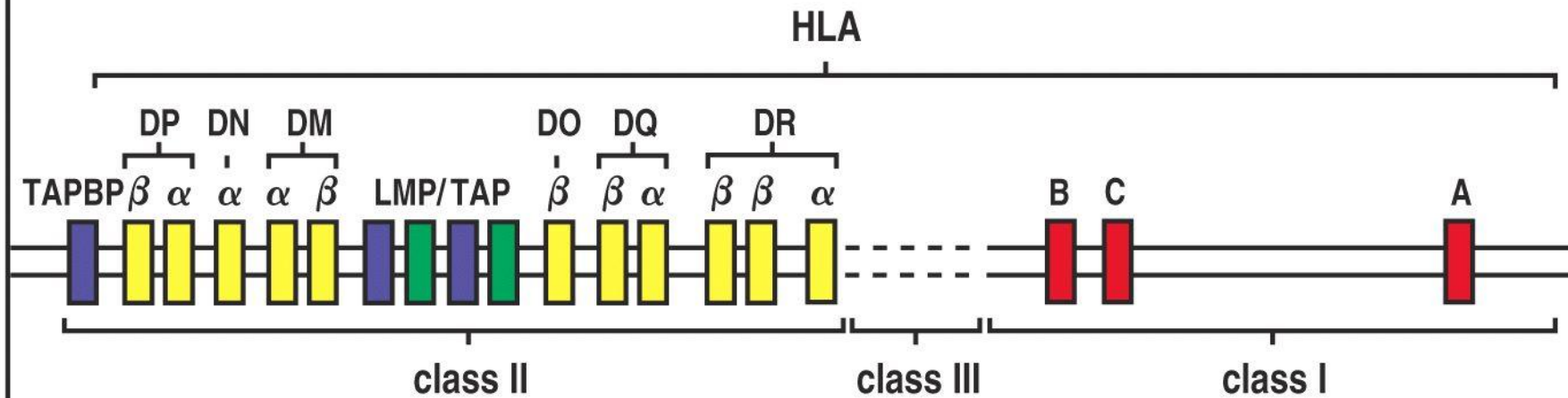


Figure 3-13 part 1 of 2 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Les molécules HLA sont codées par des gènes situés sur le chromosome 6

- Ces gènes sont étroitement liés entre eux
- Les gènes de classe 1 : A, B, C codent pour les molécules de classe 1. 1 gène de classe 1 code pour 1 molécule de classe 1.
- Les gènes de classe 2 : DR, DQ, DP codent pour les molécules de classe 2. Il faut 2 gènes de classe 2 pour coder 1 molécule de classe 2 .
- Ex : pour 1 molécule DR qui est constituée de 2 chaînes α et β , il faut 1 gène DRA et 1 gène DRB.
- Locus = emplacement du gène sur le chromosome

Gene structure of the human MHC



Gene structure of the mouse MHC

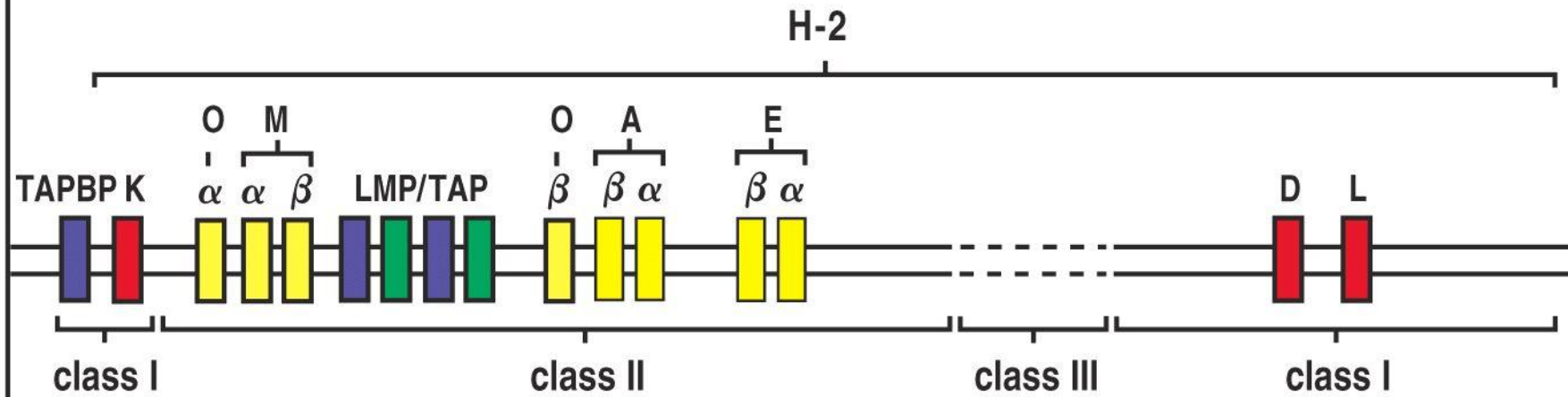
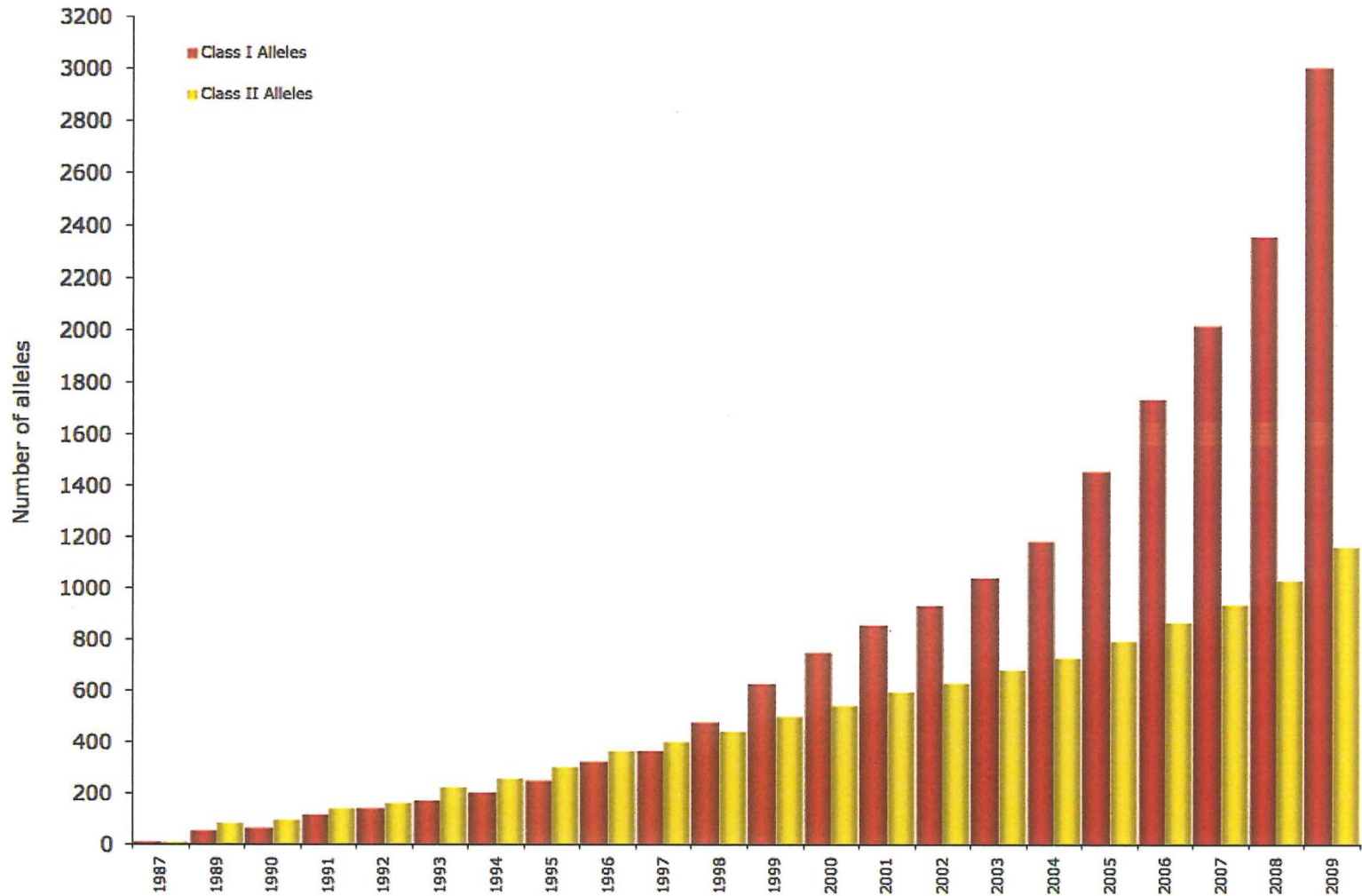


Figure 5-11 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

[Le CMH est très polymorphe]

- Chaque gène se présente sous de très nombreuses variétés à l'origine de très nombreuses molécules différentes.
- Les différentes formes d'un gène sur un locus : allèles.
Ex : Le gène A*10 peut se présenter sous plusieurs allèles : A*10:01, *10:02, *10:03...
- Ainsi : Classe 1 > 2500 allèles, classe 2 > 800 allèles, tous à l'origine de molécules différentes.
- Chaque individu est unique au regard du système HLA
- Cependant, on observe des fréquences variables selon les allèles et des associations d'allèles plus fréquentes que d'autres, selon les populations (déséquilibre de liaison).



La notion d'haplotype

- Les chromosomes sont associés par paire : 1 issu du père et 1 issu de la mère
- L'haplotype est l'ensemble des gènes HLA portés par le même chromosome et transmis en bloc par un parent.
- Chaque individu possède donc 2 haplotypes.
Ex : groupe HLA du père HLA-A1, 2 ; B13, 51
Groupe HLA de la mère HLA-A3, 24 ; B8, 44
Enfant HLA-A1, 3 ; B51, 8
- L'enfant a reçu de son père l'haplotype A1, B51 (a) (2ème haplotype du père : A2, B13 (b) et de sa mère l'haplotype A3, B8 (c) (2ème haplotype de la mère : A24, B44) (d)
- Selon la combinaison des haplotypes des parents, on peut trouver 4 « types » d'enfant différents : (a) (c) / (a) (d) / (b) (c) / (b) (d)
- Parmi les frères et sœurs : probabilité de 1/4 d'être identiques, de 1/4 d'être différents, de 2/4 d'être semi-identiques

Nomenclature

- D'abord sérologique : détermination des Antigènes à la surface des cellules : HLA A1, HLA B27, HLA DR7... par lymphocytotoxicité (LCT).
- Maintenant basée sur la biologie moléculaire avec mise en évidence :
 - des gènes : A*01, B*14, DR*07... : détermination *générique* ou 2 digits ou basse résolution
 - ou des allèles : A*01:01, B*14:01, DR*07:02... : détermination *allélique* ou 4 digits ou haute résolution
- Ex de typage allélique d'un patient en vue d'allogreffe :
A*02:01,*29:02 ; B*44:03,*51:01 ; C*15:02,*16:01 ;
DRB1*01:01,*08:01 ; DQB1*04:02,*05:01 ;
DPB1*03:01,*04:01

Molécules de classe 1 et de classe 2

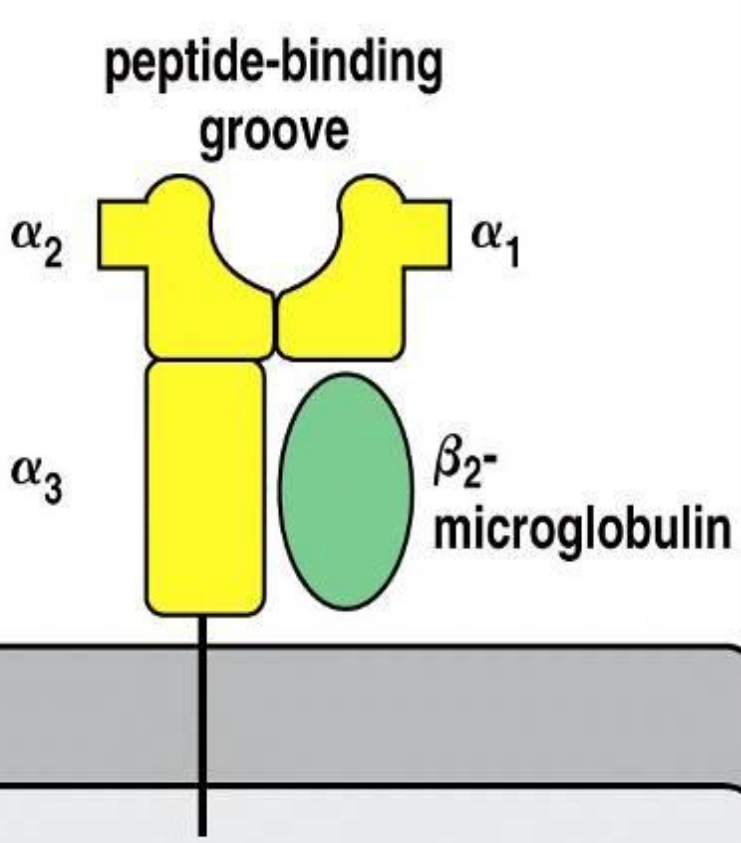
Molécules de classe 1 :

- Constituées d'une chaîne α associée à une chaîne de β 2microglobuline (qui n'est pas codée par 1 gène HLA).
- Elles sont présentes à la surface de toutes les cellules nucléées de l'organisme (mais à une densité variable selon les tissus)

Molécules de classe 2 :

- Constituées de 2 chaînes α et β codées par chacune par 2 gènes HLA de classe 2 A et B.
- Elles sont présentes uniquement sur les cellules immunitaires chargées de présenter les Ag (lymphocytes B, macrophages ...)

MHC class I molecule



MHC class II molecule

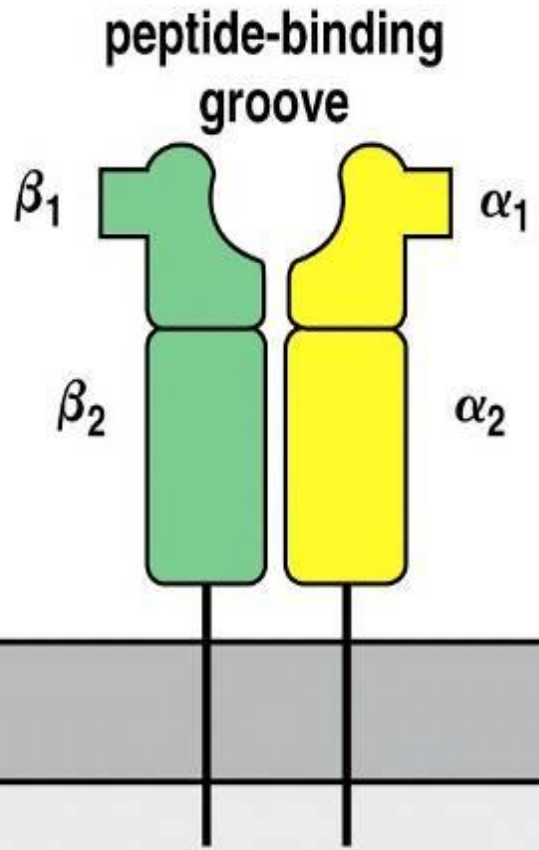
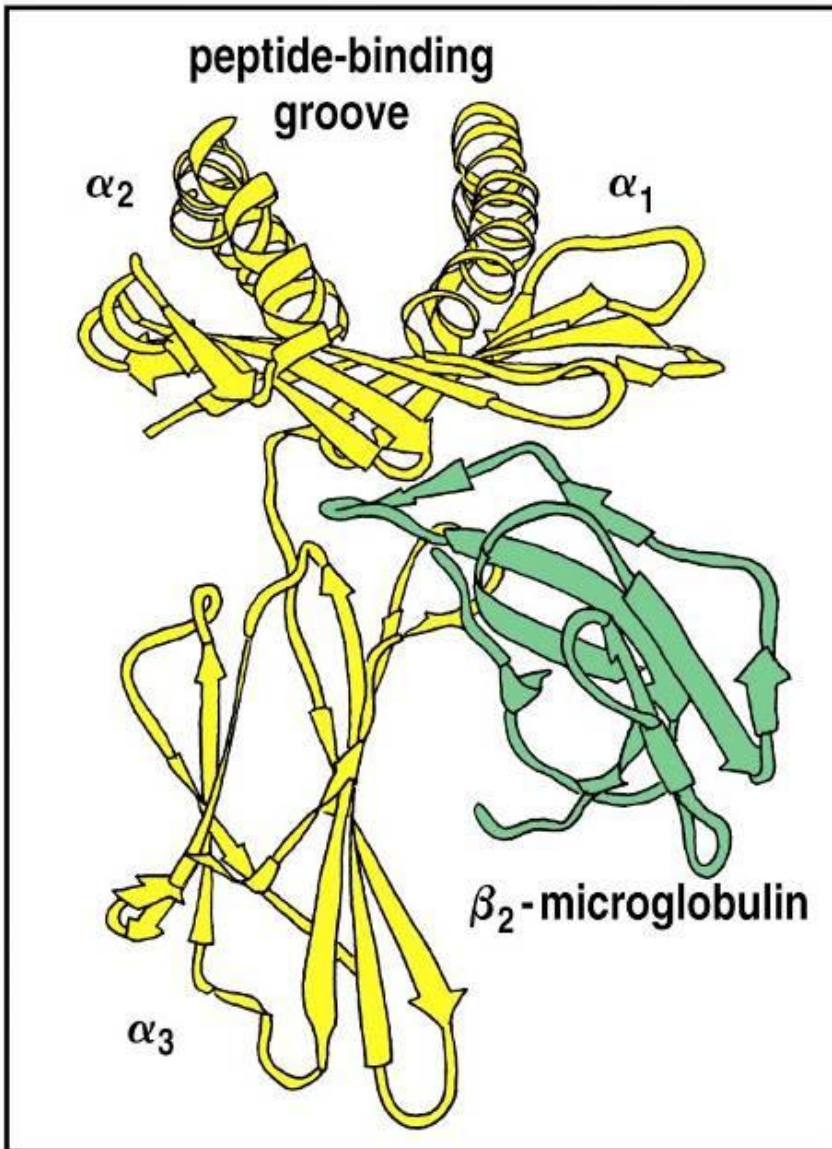
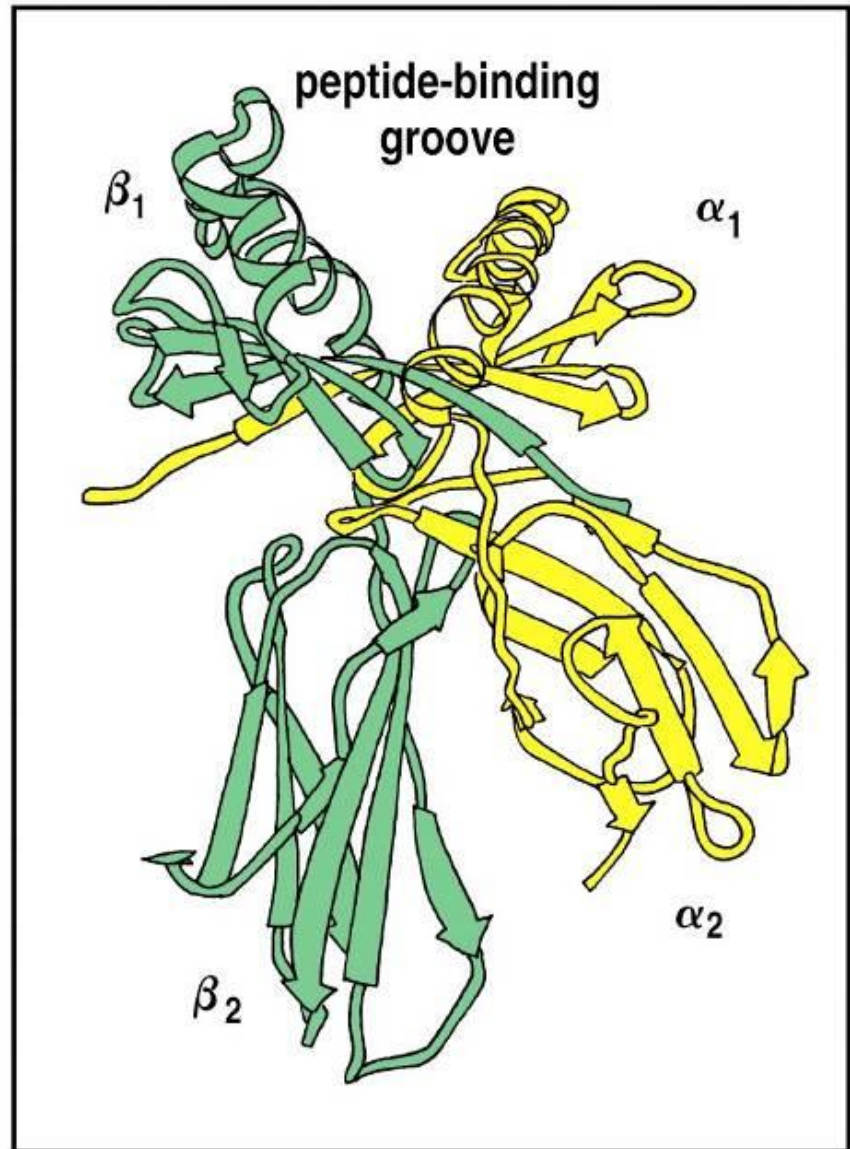


Figure 3-13 part 1 of 2 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

MHC class I molecule



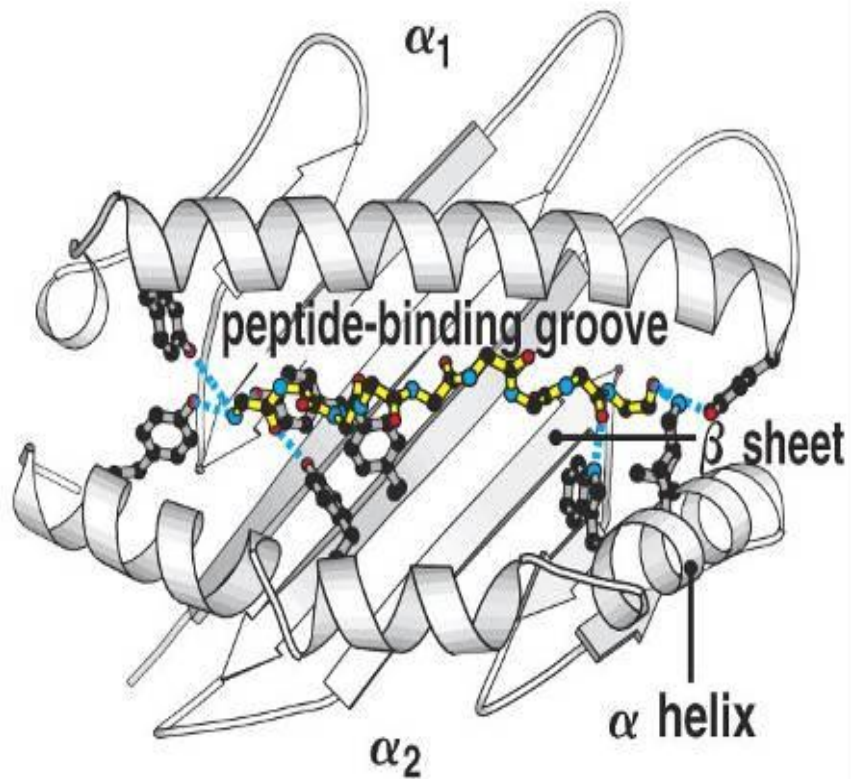
MHC class II molecule



Quel est le rôle du système HLA ?

- Rôle central dans la **réponse immunitaire** vis-à-vis du non soi et du soi altéré.
- C'est la molécule HLA qui présente l'antigène « étranger » aux cellules immunitaires chargées de l'éliminer.
- C'est par les molécules HLA que les cellules de l'organisme reconnaissent le soi du non soi.
- Les molécules de classe 1 et de classe 2 ont un rôle différent :
 - **Classe 1** : présentation des Ag intracellulaires (virus) aux cellules T cytotoxiques (CD8)
 - **Classe 2** : présentation des Ag extracellulaires aux cellules T (CD4) qui activées, activent à leur tour d'autres cellules du système de défense.

MHC class I



MHC class II

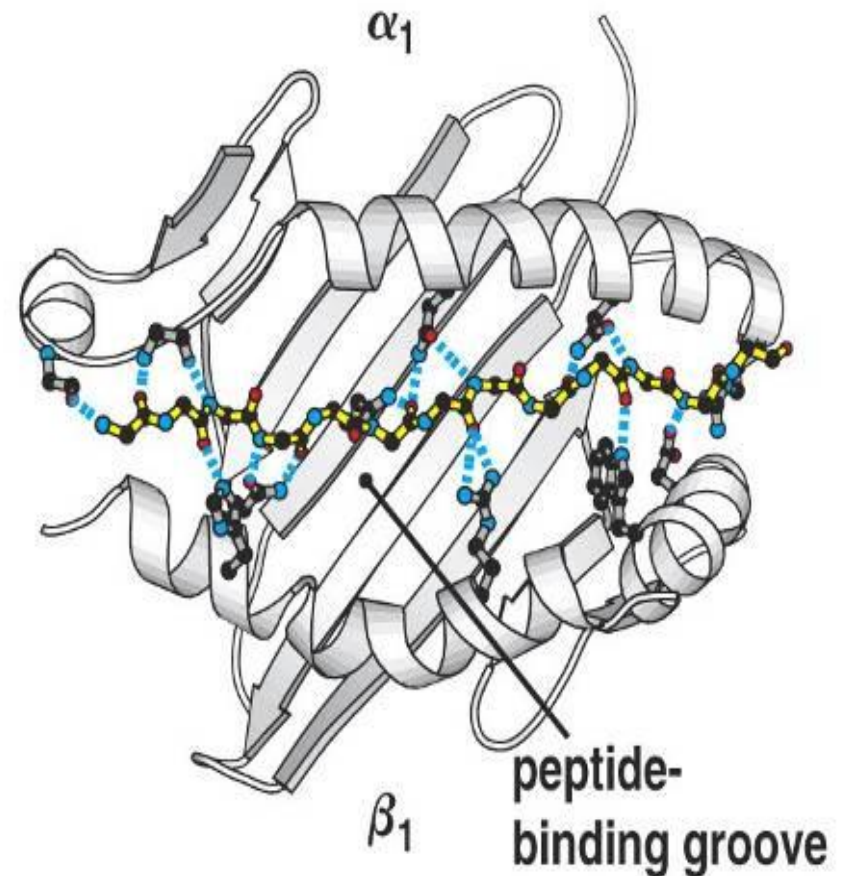


Figure 3-15 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

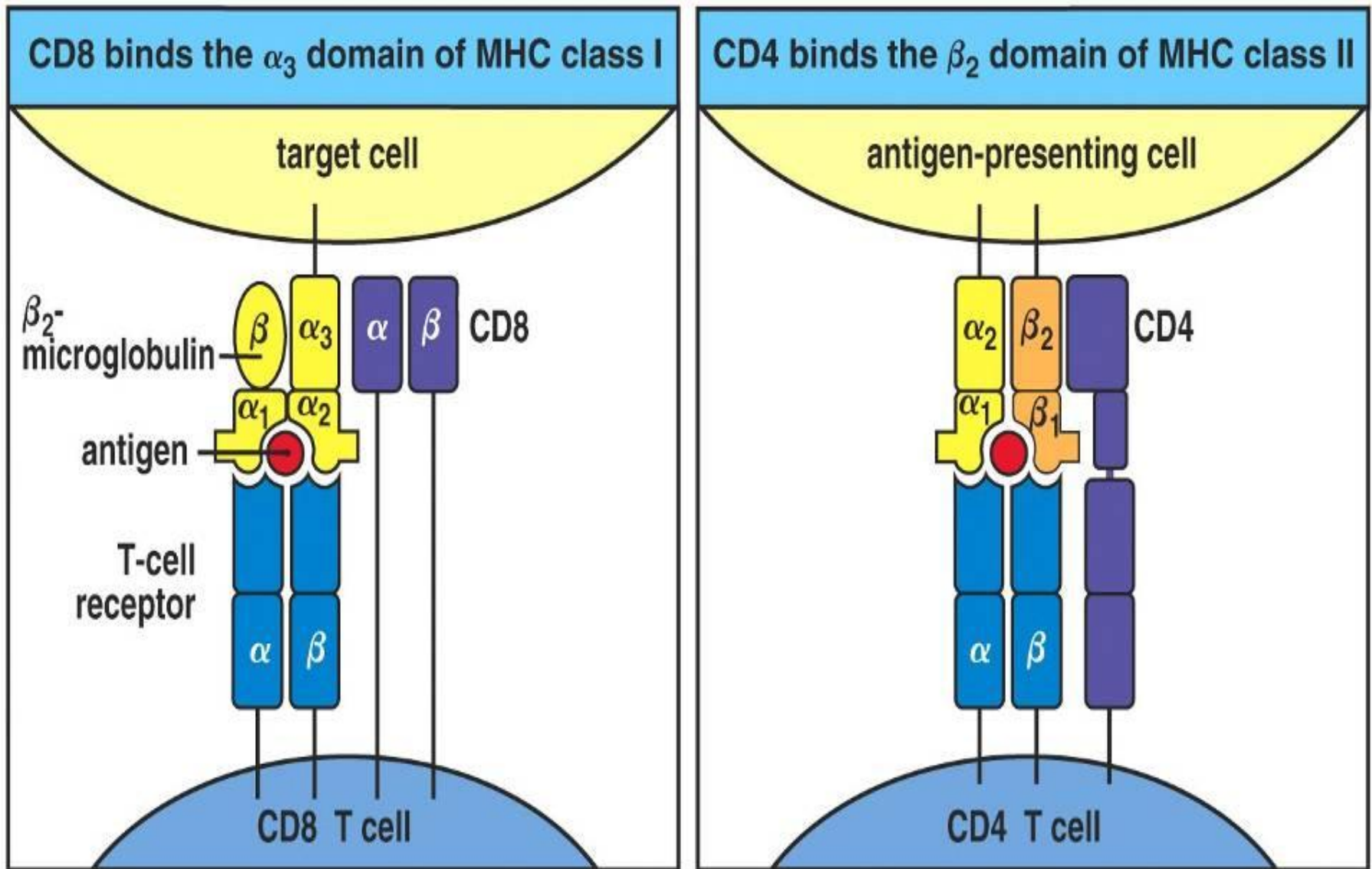


Figure 3-14 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Immunsation HLA

Quand apparaissent les AC Anti HLA ?

- Après une transplantation
- Après une grossesse : La mère s'immunise contre les Ag HLA du bébé d'origine paternelle et d'autant plus fréquemment si plusieurs grossesses: 30% à 40%.
- Après une transfusion :
 - De plaquettes qui portent uniquement des Ag HLA de classe 1
 - De globules blancs
 - De CGR : les GR ne portent pas d'antigènes HLA. Les CGR déleucocytés n'induisent donc pas d'immunsation (risque 3%)
- AC naturels : sont rares

Les réactions croisées

1 - Les spécificités larges et leurs « splits » :

Classe 1 :

- **A9** A23 A24 **B5** B51 B52 **B16** B38 B39 **B40** B60 B61
- **A10** A25 A26 A34 A66 **B12** B44 B45 **B17** B57 B58 **B70** B71 B72
- **A19** A29 A30 **B14** B64 B65 **B21** B49 B50
- **A28** A68 A69 **B15** B62 B63 B75 B76 B77 **B22** B54 B55 B56

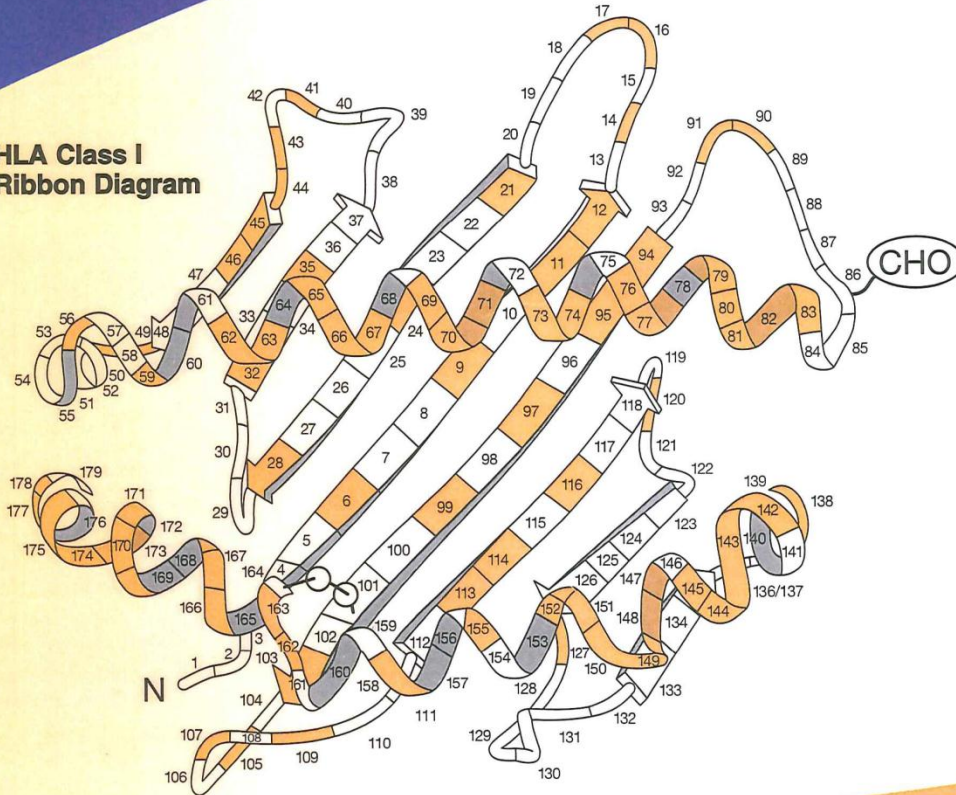
Classe 2 :

- **DR2** DR15 DR16 **DQ1** DQ5 DQ6
- **DR3** DR17 DR18 **DQ3** DQ7 DQ8 DQ9
- **DR5** DR11 DR12
- **DR6** DR13 DR14

2 – Les groupes de réactions croisées (CREG) :

- Ce sont des groupes d'antigènes différents qui peuvent être reconnus par les mêmes AC parce que ces antigènes partagent des épitopes communs.
- Epitope : portion de la molécule qui se lie au site anticorps.

**HLA Class I
Ribbon Diagram**



Polymorphic Positions

Class I Ribbon courtesy of RCSB Protein Data Bank
Web site, www.rcsb.org

LC972.0

- A1 CREG A1, 3, 11, 36, 23, 24, 29, 30, 31, 80
- A2 CREG A2, 68, 69, 23, 24, B57, 58
- A10 CREG A11, 25, 32, 26, 33, 34, 66, 68, 69, 74
- A19 CREG A29, 30, 31, 32, 33, 74
- B5 CREG B18, 35, 51, 52, 53, 49, 50, 57, 58, 62, 63, 71, 72, 75, 76, 77, 78
- B7 CREG B7, 27, 2708, 2712, 2718, 13, 37, 41, 42, 47, 48, 54, 55, 56, 60, 61, 73, 81
- B8 CREG B8, 0802, 0803, 18, 38, 39, 59, 64, 65, 67
- B12 CREG B13, 37, 41, 44, 45, 49, 50, 47, 60, 61
- B15 CREG B57, 58, 62, 63, 71, 72, 75, 76, 77
- Bw4 CREG Bw4, A23, 24, 25, 32
- Bw6 CREG Bw6

Underline denotes common or partial CREG

Modified from, Rodey GE (2000). HLA Beyond Tears; 2nd Ed., De Novo, Durango CO



Tepnel Lifecodes Corporation

550 West Avenue, Stamford, CT 06902
1.888.329.0255 • FAX: 1.203.328.9599

Europe: Heuvelstraat 60, B-2560 Nijlen, Belgium
+32.3.385.47.91 • FAX: +32.3.385.47.92

Techniques de détection des AC Anti HLA

- La microlymphocytotoxicité
- La technique ELISA
- La technique Luminex :
 - Très sensible
 - 100 billes colorées du rouge à l'infrarouge
 - Chaque type de bille colorée est recouverte de molécule HLA purifiées. Les AC vont se fixer sur leur cible.
 - Un AC anti IgG va se fixer sur les complexes Ag AC fixés sur les billes
 - Lecture au moyen de 2 lasers : 1 reconnaît la couleur de la bille, l'autre les AC fixés
 - Il existe des kits de dépistage et d'identification

Applications en clinique

1. Transplantation d'organe (rein)

- Identité totale de groupe HLA non obligatoire
- Mais le respect des Ac Anti HLA est impératif. Contrôle ultime : cross-match lymphocytaire (par LCT)

2. Greffe de moelle

- Compatibilité HLA la plus parfaite possible (au niveau allélique)

3. Associations avec les maladies

- Exemple : HLA B27

4. Transfusion

Implications du système HLA en transfusion

1- Complications liées aux AC HLA :

- AC du receveur (Inefficacité plaquettaire)
- AC du donneur (TRALI)

2- Complications liées à la réponse immunitaire induite par les Ag HLA

La réaction de greffon contre l'hôte

Complications liées aux AC HLA du receveur

AC HLA du receveur dirigés contre les Ag HLA présents sur les cellules du donneur :

- Receveurs concernés :
 - Femmes ayant eu des enfants
 - Polytransfusés (plaquettes)
 - Greffés d'organe

- Conséquences :
 - Transfusion de CGR : effets rares actuellement depuis la déleucocytation : frissons -hyperthermie
 - Transfusion de plaquettes :
 - Réaction frissons-hyperthermie
 - Inefficacité transfusionnelle (absence de rendement)
 - Seuls sont responsables les AC de classe 1

L'inefficacité transfusionnelle plaquettaire

- **Définition** : Rendement plaquettaire inférieur à celui attendu après 2 concentrés plaquettaires
- **Causes** :
 - Non immunologiques : nombreuses : 2/3 des cas de manière isolée ou associée
 - Fièvre, état infectieux, chimiothérapie, splénomégalie, CIVD...
 - Age de la plaquette transfusée
 - Immunologiques non HLA :
 - Incompatibilité ABO
 - Présence d'AC anti plaquettaires spécifiques (HPA)
 - AC anti HLA : AC de classe 1
 - Réaction de type frissons-hyperthermie possible lors de la transfusion

L'inefficacité transfusionnelle plaquettaire par AC HLA

Conduite à tenir

- 1- Éliminer une cause non immunologique
- 2- Réaliser chez le receveur :
 - Typage HLA de classe 1
 - La recherche d'AC HLA pour déterminer les spécificités en cause.
- 3- Sélectionner des plaquettes HLA classe 1 compatibles = ne pas distribuer de plaquettes porteuses des Ag HLA correspondants aux AC du receveur (avec élargissement possible aux CREG)
 - Choix parmi le stock disponible
 - Ou convocation de donneurs à partir d'une liste de donneurs de plaquettes typés HLA
 - En dernier recours, transfusion de mélanges plaquettaires.

L'inefficacité transfusionnelle plaquettaire par AC HLA

Attitude préventive

Eviter l'immunisation HLA lors des transfusions de CGR :
Déleucocytation (qui prévient aussi les réactions de
type frissons-hyperthermie)

Chez le receveur :

- Pas de consensus
- Pour tout patient susceptible d'être transfusé de manière répétée en plaquettes :
 - Typage HLA de classe 1
 - Recherche d'AC HLA à un rythme à définir avec les cliniciens

Complications liées aux AC HLA du donneur : le TRALI

TRALI : Transfusion-Related Acute Lung Injury

- Syndrome clinique défini par :
 - Une détresse respiratoire aiguë par œdème pulmonaire aigu de type lésionnel (non cardiogénique)
 - Avec signes radiologiques évocateurs : image d'infiltrats pulmonaires bilatéraux (opacités alvéolaires cotonneuses plus ou moins confluentes).
 - D'apparition rapidement progressive dans l'heure (et maximum dans les 6h) suivant une transfusion.
- Complication grave, mettant parfois en jeu le pronostic vital.
- Actuellement, la complication mortelle la plus fréquente de la transfusion .

Complications liées aux AC

HLA du donneur : le TRALI

- PSL en cause : tous ceux contenant du plasma, en premier lieu PFC et plaquettes.
 - Fréquence de survenue estimée à 1/5000 produits transfusés
- Mécanisme imparfaitement connu : successivement
 - Activation des PN au niveau des capillaires pulmonaires
 - Lésion de la membrane alvéolaire
 - Augmentation de leur perméabilité
 - Passage de liquide dans les alvéoles pulmonaires.

Dans un contexte pathologique favorisant : chimiothérapie intensive, pathologie cardio-vasculaire, chirurgie, états infectieux, transfusion massive

Complications liées aux AC

HLA du donneur : le TRALI

Origine : conflit AC du donneur apportés par la transfusion et Ag du receveur = TRALI immunologique :

- AC HLA de cl.1 ou 2 du donneur considérés comme des éléments majeurs dans la survenue de cette pathologie
- AC spécifiques antipolynucléaires du donneur

Parfois mise en cause des AC HLA chez le receveur dirigés contre les Ag du donneur : TRALI inversé

Voire absence d'AC chez le donneur et le receveur : TRALI non immunologique (rôle de lipides activateurs dans le PSL libérés lors de la conservation)

Complications liées aux AC

HLA du donneur : le TRALI

- Les 3 facteurs impliqués dans le TRALI :
 - 1- Le patient : patients à risque
Chirurgie, états infectieux, hémopathies malignes...
 - 2- Le produit : produits à risque : produits riches en plasma contenant les AC
 - 3- Le donneur : donneur à risque, ayant des AC anti HLA ou anti HNA

Complications liées aux AC HLA du donneur : le TRALI

Prévention

Actions à 3 niveaux :

- Le donneur : Ne prélever pour le don de plasma ou de plaquettes que des hommes, des femmes n'ayant pas eu d'enfant, ou ayant été testées AC HLA nég.
- Le produit : Réduire la quantité de plasma dans les CGR
- Le receveur à risque : Pas d'action préventive possible.

Complication liée à la réponse immunitaire induite par les Ag HLA

La réaction de greffon contre l'hôte

Définition : Prolifération des lymphocytes viables du donneur chez un receveur incapable de les rejeter du fait d'une déficience immunitaire. Les lymphocytes transfusés prolifèrent et attaquent les organes et tissus du receveur : atteinte cutanée, hépatique, diarrhée...

Survenue dans les 4 à 30 jours après transfusion. Souvent fatale.

Donc fonction :

- - de l'état immunitaire du patient
- - de la présence de lymphocytes dans le produit transfusé
- - du degré de similitude HLA entre donneur et receveur : cette similitude pouvant faire que les lymphocytes du donneur ne soient pas reconnus comme étrangers. Risque augmenté si donneur apparenté ou donneur homozygote avec un haplotype du receveur.

Complication liée à la réponse immunitaire induite par les Ag HLA

La réaction de greffon contre l'hôte

Prévention : Outre la déleucocytation, c'est l'irradiation des PSL à la dose de 25 à 45 grays pour les patients profondément immunodéprimés :

- - déficits immunitaires cellulaires congénitaux
- - greffés de moelle ou cellules souches hématopoïétiques : 1 an après autogreffe, à vie si allogreffe
- - transfusions in utero, nouveau-nés
- - receveurs de produits issus de donneurs apparentés.

CONCLUSION

3 grandes complications liées au HLA

- - **GvH** : bien maîtrisée par l'irradiation si les indications des receveurs qui doivent en bénéficier sont bien posées
- - **L'inefficacité transfusionnelle plaquettaire** : nécessité d'un pool de donneurs de CPA typés HLA
- - **Le TRALI** : Mesures préventives actuelles incomplètes : ne concernent pas les CGR, problème du TRALI inversé et non immunologique.