LA JOURNÉE ANNUELLE DU CRPP

28 NOVEMBRE 2022
AMPHITHÉATHRE CERIMED-FACULTÉ DE MÉDECINE
27 BD JEAN MOULIN 13005 MARSEILLE

Développement d'iso-anticorps anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ dans la thrombasthénie de Glanzmann : Données préliminaires (étude TAAS)

Dr. Mathieu FIORE
Laboratoire d'Hématologie, CRPP
CHU de Bordeaux

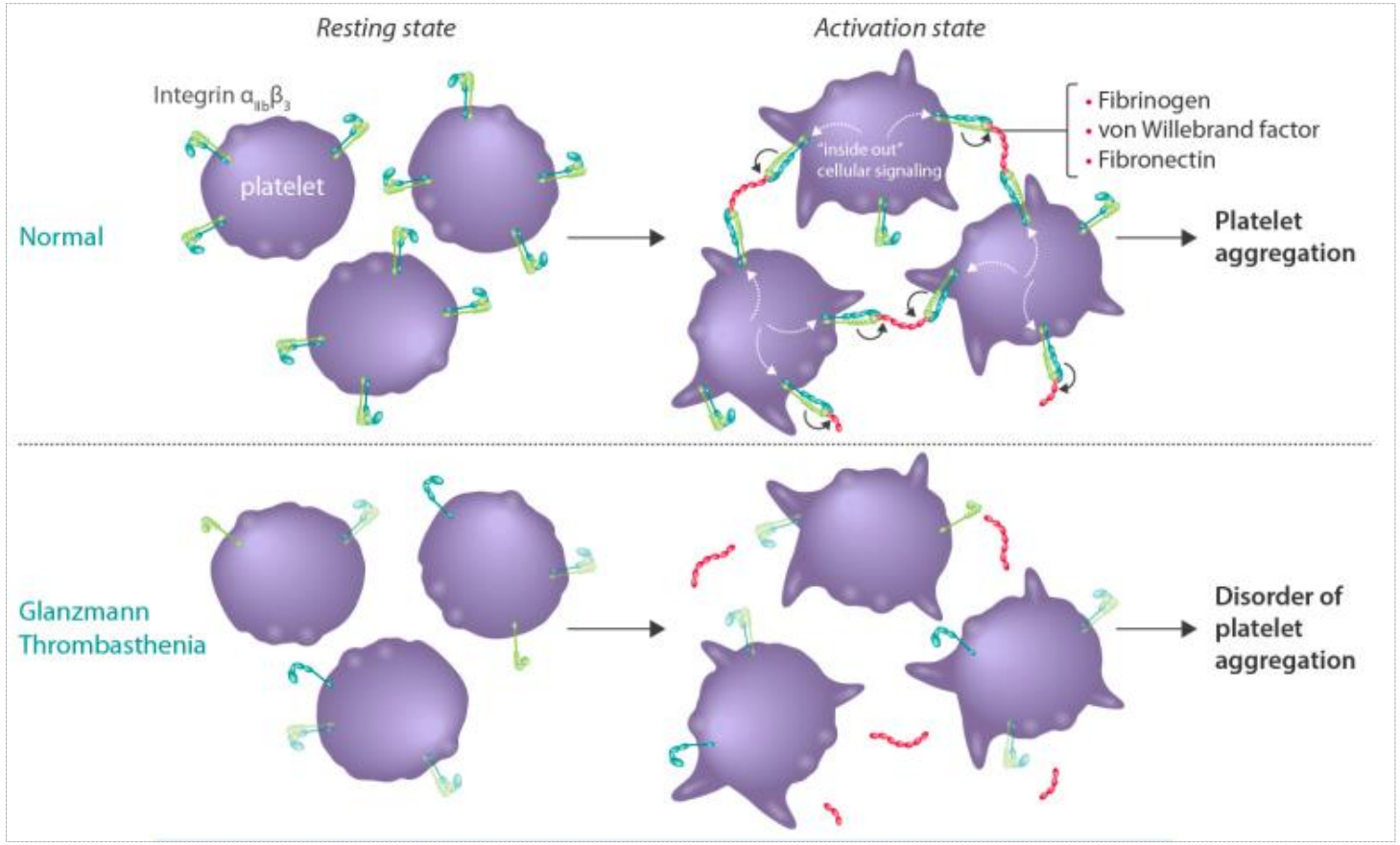
CHU BDX CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE BORDEAUX

maladies rares

CRPP

Thrombasthénie de Glanzmann (TG)

Maladie hémorragique autosomique récessive rare causée par l'absence ou la dysfonction de l'intégrine $\alpha_{IIb}\beta_3$



Botero et al., Haematologica, 2020

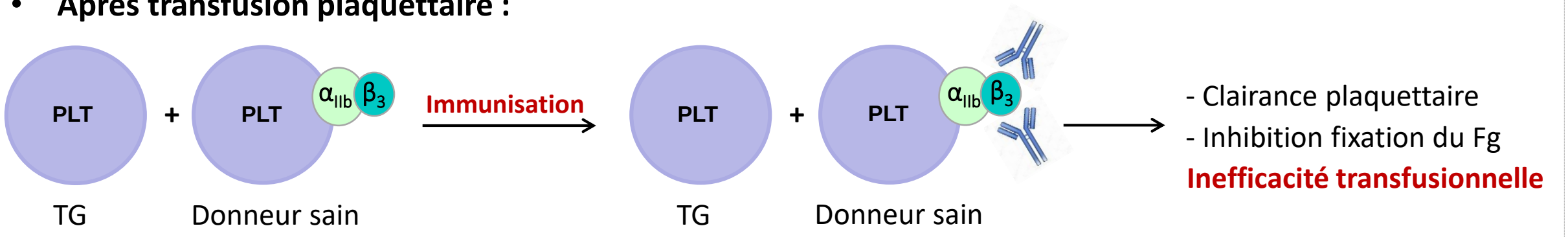
Mutations dans le gène *ITGA2B* ou *ITGB3*

3 sous-types :
- Types I (< 5 %) et II (5-20%) : anomalie quantitative
- « Variant » TG : anomalie qualitative

Concentrés plaquettaires (PLT) sont utilisés pour prévenir et traiter les saignements pouvant engager le pronostic vital

Iso-immunisation anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$

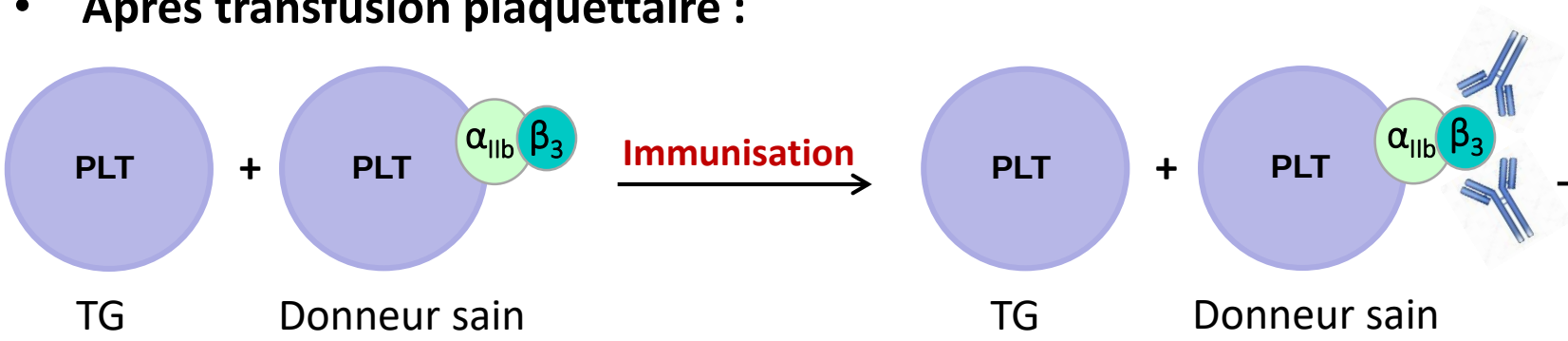
- **Après transfusion plaquettaire :**



!! Risque hémorragique !!

Iso-immunisation anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$

- **Après transfusion plaquettaire :**



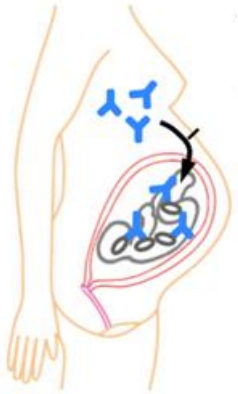
- Clairance plaquettaire
- Inhibition fixation du Fg

Inefficacité transfusionnelle

!! Risque hémorragique !!

- **Au cours d'une grossesse :**

Immunisation



- Thrombopénie fœtale
- Hémorragie fœtale intracrânienne

Epidémiologie anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$

Table I. Studies reporting the incidence of anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies in Glanzmann thrombasthenia.

Total patients (*n*)	Patients screened (*n*)	Positive cases [*n* (%)]	Methods	References
177	Not specified	6 (3·5%)	Not specified	George *et al* (1990)
59	54	21 (39%)	MAIPA; other immunological methods; methods based on inhibition of normal platelet aggregation by the patient's plasma	Poon *et al* (2004)
17	16	2 (12·5%)	MAIPA / ELISA using the commercial plate (PAK2-LE)	Santoro *et al* (2010)
24	24	13/16 (81%) of the French Gypsy patients and 2/8 (25%) of the patients with other GT mutations	MAIPA	Fiore *et al* (2012)
83	Not specified	20 (24%)	Not specified	Nurden *et al* (2015)
218	Not specified	47 (22%)	Not specified	Poon *et al* (2016)

ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; GT, Glanzmann thrombasthenia; MAIPA, monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens.

Fiore et al., British Journal Of Haematology, 2018

Facteurs de risques associés aux anticorps anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$?

Sexe, type de TG, origine ethnique, mutation génétique, antécédents transfusionnels ?

Objectifs de l'étude TAAS

*(**T**hrombasthenia **A**nti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ **A**ntibodies **S**tudy) : NCT04595617*

- **Déterminer la prévalence** de l'immunisation dans une cohorte française de patients atteints de TG
- **Identifier les facteurs de risques** génétiques, socio-démographiques et thérapeutiques d'immunisation
- **Décrire la cinétique** d'immunisation grâce à une étude prospective
- **Déterminer le mécanisme d'inhibition** des anticorps anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$

Matériels et Méthodes

Etude nationale prospective multicentrique *(Bordeaux, Le Kremlin-Bicêtre, Marseille, Nîmes, Strasbourg, Toulouse)*

Inclusion de tout patient avec un diagnostic de certitude de TG, objectif : 40 patients

Inclusion **M 6** **M 12** **M 18**

Recueil de données

Recueil de données :

- sous type de TG
- mutation gène *ITGA2B* ou *ITGB3*
- antécédents familiaux
- âge à la première transfusion, nombre et type de transfusions
- délai après transfusion et le dépistage d'anticorps

Matériels et Méthodes

Etude nationale prospective multicentrique *(Bordeaux, Le Kremlin-Bicêtre, Marseille, Nîmes, Strasbourg, Toulouse)*

Inclusion de tout patient avec un diagnostic de certitude de TG, objectif : 40 patients

Inclusion	**M 6**	**M 12**	**M 18**
Recueil de données + dépistage	*Dépistage*	*Dépistage*	*Dépistage*

<u>Dépistage :</u> **MAIPA (Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigens)**

Méthode de référence

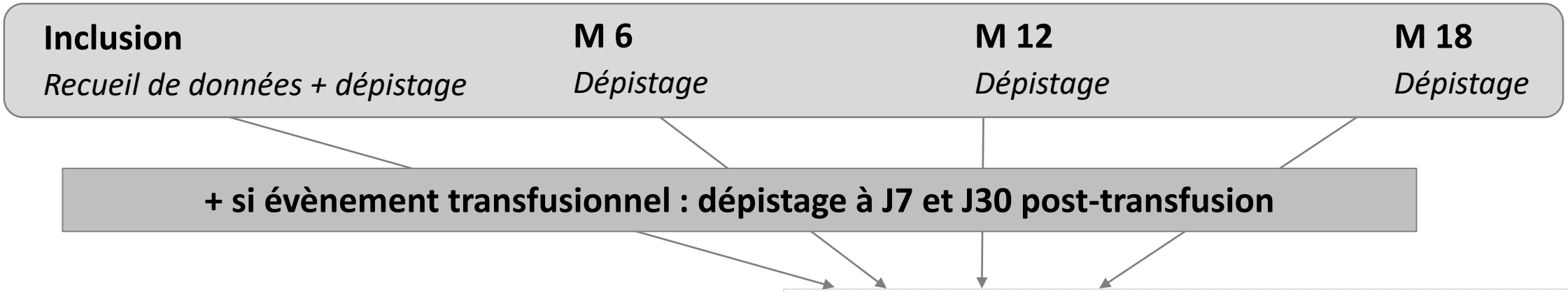
Utilisation de 2 clones : **P2 ($\alpha_{IIb}\beta_3$ complex)** et **Y2/51 (β_3)**
Ratio DO patient/DO pool témoin

Tous réalisés sur le centre de Bordeaux

Matériels et Méthodes

Etude nationale prospective multicentrique *(Bordeaux, Le Kremlin-Bicêtre, Marseille, Nîmes, Strasbourg, Toulouse)*

Inclusion de tout patient avec un diagnostic de certitude de TG, objectif : 40 patients



Dépistage : **MAIPA (Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigens)**

Méthode de référence

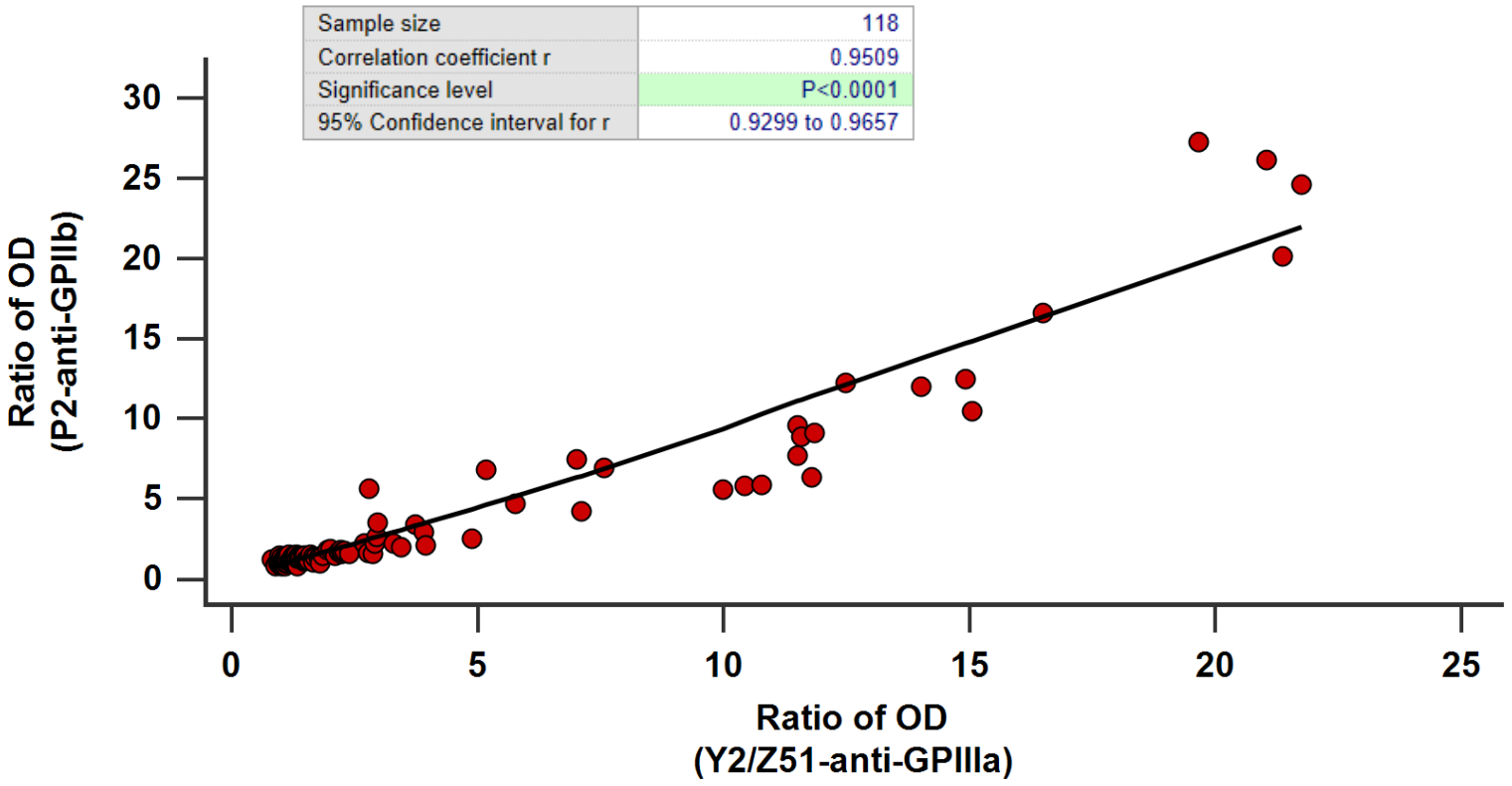
Utilisation de 2 clones : **P2 ($\alpha_{IIb}\beta_3$ complex)** et **Y2/51 (β_3)**
Ratio DO patient/DO pool témoin

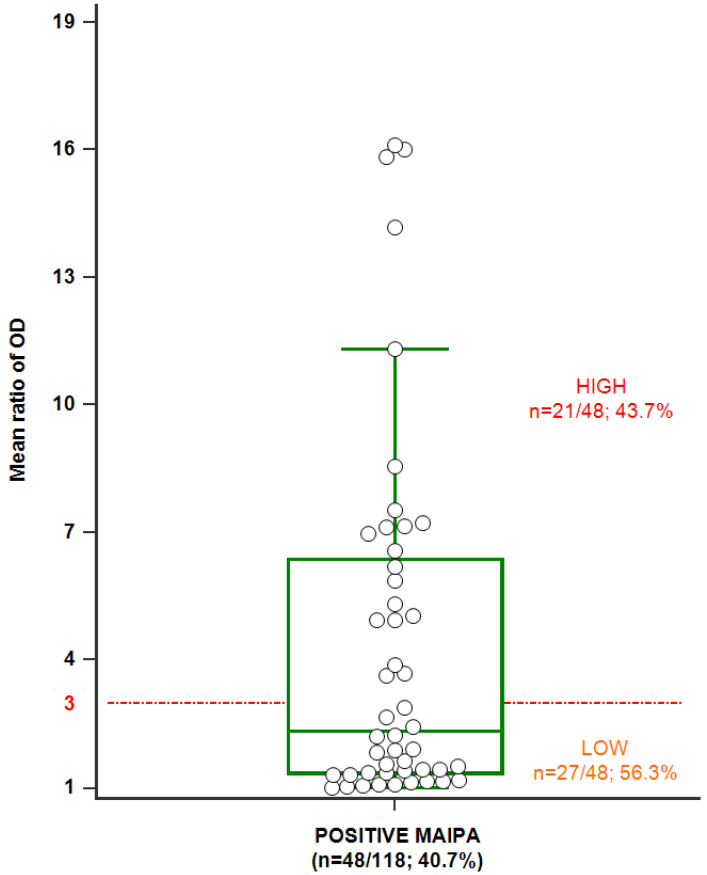
Tous réalisés sur le centre de Bordeaux

Résultats

Inclusion de **41 patients** entre janvier et octobre 2021

Présentation des **données préliminaires sur le suivi sérologique : 118 sérums** analysés





French Gypsy patients and the development of platelet anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies (at inclusion)

n=19/41; 46.3%

Variables	Anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies			
	All (n=19; 100.0%)	Negative (n=4; 21.1%)	Positive (n=15; 78.9%)	p
Age, median [IQR]	37.0 [28.5-58.2]	31.0 [26.5-42.0]	39.0 [29.7-59.0]	0.34
Male, n (%)	7/19 (36.8)	2/7 (28.6)	5/7 (71.4)	0.6
Female, n (%)	12/19 (63.2)	2/12 (16.7)	10/12 (83.3)	
Family history of anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies	13/16 (81.2)	3/4 (75.0)	10/12 (83.3)	1
Blood products administration, n (%)	19/19 (100.0)	4/4 (100.0)	15/15 (100.0)	1
Platelet concentrates (PC) administration	15/18 (83.3)	4/4 (100.0)	11/14 (78.6)	1

- Age at inclusion = 37.0 years (28.5-58.2)
- Male-to-female ratio = 0.58
- **83.3% had received at least once platelet transfusions**
- **78.8% had positive Abs**
- **Three positive patients** had never received treatment with platelet concentrates

Relationship between blood product administrations and antibody expression in Gypsy patients

Variables	Anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies			
	All (n=19; 100.0%)	Negative (n=4; 21.1%)	Positive (n=15; 78.9%)	p
Number of PLT administration				
nb < 5	6/14 (42.9)	3/4 (75.0)	3/10 (30.0)	0.04
nb = 5-10	1/14 (7.1)	1/4 (25.0)	0/10 (0.0)	
nb >10	7/14 (50.0)	0/4 (0.0)	7/10 (70.0)	
Type of PLT				
Apheresis, n=12	12/12 (100.0)	2/2 (100.0)	10/10 (100.0)	1
HLA-compatible, n=9	1/9 (11.1)	0/2 (0.0)	1/7 (14.3)	1
MCPS, =11	10/11 (90.9)	2/2 (100.0)	8/9 (88.9)	1
RBC administration	17/18 (94.4)	3/4 (75.0)	14/14 (100.0)	0.22
Total number (nb) of RBC				
nb < 5	6/17 (35.3)	1/3 (33.3)	5/14 (35.7)	1
nb = 5-10	2/17 (11.8)	0/3 (0.0)	2/14 (14.3)	
nb >10	9/17 (52.9)	2/3 (66.6)	7/14 (50.0)	
Age at first blood products administration, n=19	10.0 [5.2-30.7]	4.0 [2.0-11.0]	20.0 [8.5-31.7]	0.08
PLT	12/16 (75.0)	3/4 (75.0)	9/12 (75.0)	1
RBC	10/18 (55.6)	2/4 (50.0)	8/14 (57.1)	1
Time to last blood products administration	5.0 [2.1-15.0]; n=18	11.5 [1.7-23.0]; n=4	5 [2.1-11.7]; n=15	0.65
PLT	4.2 [2.0-12.5]; n=8	23.0 [20.0-26.0]; n=2	3.0 [2.0-4.5]; n=6	0.04
RBC	5.5 [2.5-12.0]; n=14	3.0 [1.1-15.7]; n=3	6.0 [3.0-11.7; n=11	0.77

- Patients with anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ Abs had **received more platelet concentrates**

- **Shorter time to last platelet transfusions**

Relationship between other factors and antibody expression in Gypsy patients

Variables	Anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies			
	All (n=19; 100.0%)	Negative (n=4; 21.1%)	Positive (n=15; 78.9%)	p
Age at first blood products administration	10.0 [5.2-30.7]	4.0 [2.0-11.0]	20.0 [8.5-31.7]	0.08
Pregnancies	5/11 (45.0)	0/2 (0.0)	5/9 (55.6)	0.45
Positive anti-HLA Abs	6/19 (31.6)	0/4 (0.0)	6/15 (40.0)	0.25

Pregnancies were reported **in five women**, **all** of which **had developed anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies**

Positive patients tended to be **older at first blood products administration** and to be **more frequently positive for anti-HLA antibodies**

Variable	All (n=14; 100.0)	Total number (nb) of PC			
		nb < 5; 6/14 (42.9)	nb = 5-10; 1/14 (7.1)	nb >10; 7/14 (50.0)	p
Age at first blood products transfusion	20.5 [6.0-32.0]	11.0 [2.0-21.0]	2.0 [2.0-2.0]	32.0 [22.5-33.7]	0.05
Time to last PC administration, n=13	4.0 [2.0-13.0]	11.0 [2.9-21.5]	0.5 [0.5-0.5]	4.0 [2.0-8.6]	0.2
Pregnancies	4/9 (44.0)	0/2 (0.0)	0/1 (0.0)	4/6 (66.7)	0.7
Anti-HLA Abs	6/14 (42.3)	1/6 (16.7)	0/1 (0.0)	5/7 (71.4)	0.1

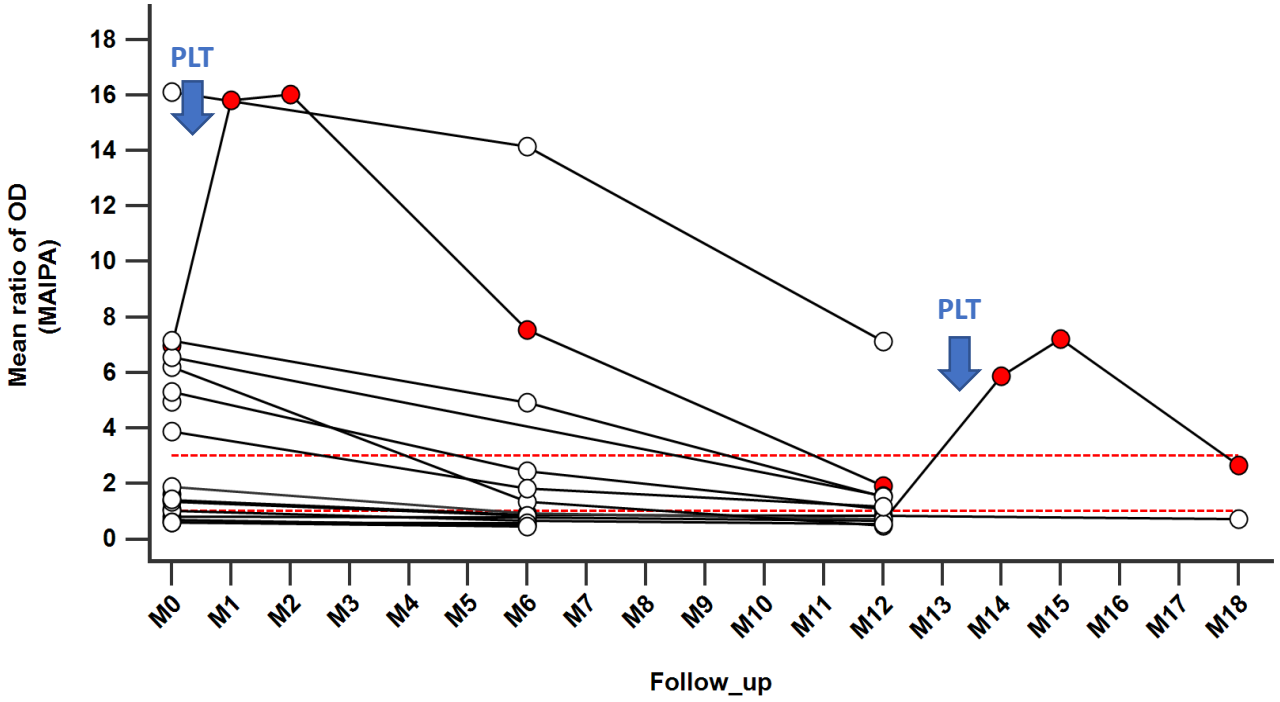
These patients had received **greater amount of platelet concentrates**

Ratio of positivity in Gypsy patients

Variables	Anti-αIIbβ3 antibodies		
	Low responders (n=7; 46.7%)	High responders (n=8; 53.3%)	p
Age, median [IQR]	39.0 [23.5-59.7]	40.0 [35.5-57.5]	1
Male, n (%)	4/5 (80.0)	1/5 (20.0)	0.12
Female, n (%)	3/10 (30.0)	7/10 (70.0)	
Family history of anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies	5/7 (71.4)	5/5 (100.0)	0.47
Blood products administration, n (%)	7/7 (100.0)	8/8 (100.0)	1
Platelet concentrates (PC) administration	4/6 (66.7)	7/8 (87.5)	0.54
Number of PLT			
nb < 5	1/4 (25.0)	2/6 (33.3)	1
nb = 5-10	0 (0.0)	0 (0.0)	
nb >10	3/4 (75.0)	4/6 (66.7)	
Type of PLT			
Apheresis, n=12	4/4 (100.0)	6/6 (100.0)	1
HLA-compatible, n=9	0/3 (0.0)	1/4 (25.0)	1
MCPS, =11	3/4 (75.0)	5/5 (100.0)	0.44

Variables	Anti-αIIbβ3 antibodies		
	Low responders (n=7; 46.7%)	High responders (n=8; 53.3%)	p
RBC administration	6/6 (100.0)	8/8 (100.0)	1
Total number (nb) of RBC			
nb < 5	3/6 (50.0)	2/8 (25.0)	0.63
nb = 5-10	0/6 (0.0)	2/8 (25.0)	
nb >10	3/6 (50.0)	4/8 (50.0)	
Age at first blood products administration, n=19	10.0 [5.7-32.2]	20.5 [10.0-31.5]	0.68
PLT	3/5 (60.0)	6/7 (85.7)	0.52
RBC			
Time to last blood products administration	6.0 [2.5-11.7]; n=7	4.7 [2.2-13.0]; n=8	0.9
PLT	2.0 [0.7-3.5]; n=3	4.5 [2.6-4.9]; n=3	
RBC	8.5 [4.0-11.5]; n=4	5.0 [3.0-14.5]; n=7	
Women with age >15 y, n (%)			
Pregnancies	2/3 (66.7)	3/6 (50.0)	1
Positive anti-HLA Abs	2/7 (28.6)	4/8 (50.0)	0.61

Suivi sérologique des patients Manouches



Not transfused patients

FOLLOW-UP	Anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies			
	NEGATIVE	LOW	HIGH	TOTAL
M_0	3 (18%)	7 (41%)	7 (41%)	17 (100%)
M_6	7 (54%)	4 (31%)	2 (15%)	13 (100%)
M_{12}	4 (44%)	4 (44%)	1 (12%)	9 (100%)

Development of platelet anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies in other GT cases

22/41 (53.7%) patients

Age, median [IQR]	24.0 [16.0-49.0]
Sex, n (%)	
Male	9/22 (40.9)
Female	13/22 (59.1)
Ethnic origin, n (%)	
Caucasian	12/22 (54.5)
North-African, Middle-East	9/22 (40.9)
Sub-Saharan Africa	1/22 (4.5)
Type of GT, n (%)	
Type I	18/22 (81.8)
Other	4/22 (18.2)
Gene, n (%)	
ITGA2B	15/22 (68.2)
ITGB3	7/22 (31.8)
Allelic status, n (%)	
Homozygous	14/22 (63.6)
Compound heterozygous	8/22 (36.4)
Type of variants*, n (%)	24/24 (100.0)
Missense	12/24 (50.0)
Nonsense	3/24 (12.5)
Splice	6/24 (25.0)
Indel	3/24 (12.5)
Biallelic null mutations, n (%)	18/18 (100.0)
Yes	5/18 (27.8)
No	13/18 (72.2)
Family history of GT, n (%)	10/22 (45.4)
With anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies	4/6 (66.7)
Blood products administration, n (%)	20/22 (90.9)

Development of platelet anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies in other GT cases

Variables	Anti-αIIbβ3 antibodies		
	Negative (n=16; 72.7%)	Positive (n=6; 27.3%)	p
Age, median [IQR]	24.0 [11.0-38.0]	52.0 [19.0-65.0]	0.07
Sex, n (%)			
Male	6/9 (66.7)	3/9 (33.3)	0.65
Female	10/13 (76.9)	3/13 (23.1)	
Ethnic origin, n (%)			
Caucasian	8/12 (66.7)	4/12 (33.3)	0.75
North-African, Middle-East	7/9 (77.8)	2/9 (22.2)	
Sub-Saharan Africa	1/1 (100.0)	0/1 (0.0)	
Type of GT, n (%)			
Type I	12/18 (66.7)	6/18 (33.3)	0.54
Other	4/4 (100.0)	0/4 (0.0)	
Gene, n (%)			
ITGA2B	10/15 (66.7)	5/15 (33.3)	0.62
ITGB3	6/7 (85.7)	1/7 (14.3)	
Allelic status, n (%)			
Homozygous	10/14 (71.4)	4/14 (28.6)	1
Compound heterozygous	6/8 (75.0)	2/8 (25.0)	
Type of variants*, n (%)	20/24 (82.6)	4/24 (17.4)	
Missense	10/12 (83.3)	2/12 (16.7)	
Nonsense	2/3 (66.7)	1/3 (33.3)	0.88
Splice	5/6 (83.3)	1/6 (16.7)	
Indel	3/3 (100.0)	0/3 (0.0)	
Biallelic null mutations, n (%)	14/18 (77.8)	4/18 (22.2)	
Yes	3/5 (60.0)	2/5 (40.0)	0.53
No	11/13 (84.6)	2/13 (15.4)	
Family history of GT, n (%)	6/10 (60.0)	4/10 (40.0)	
With anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ antibodies	3/4 (75.0)	1/4 (25.0)	1
Blood products administration, n (%)	15/16 (93.7)	5/6 (83.3)	0.48

Conclusion

- **Confirmation des résultats** précédemment observés dans notre étude rétrospective régionale:
  - Patients Manouches à haut risque d'immunisation vs autres cas de TG
  - Type I (100% des cas)

- **Nouvelles données:**
  - Présence d'Ac chez les patients Manouches associée à la quantité de concentrés transfusées / dernière transfusion récente de PLT ;
  - Cinétique d'immunisation dans cette sous-population: la positivité semble régresser progressivement au cours du temps (1/9 fortement positif à 1 an chez les non-transfusés)

- **Éléments à confirmer:**
  - Femme Manouche et positivité des Ac ?
  - *ITGA2B* ? Mutations tronquantes bi-alléliques ?

- **Limites:**
  - Peu d'évènements transfusionnels pour l'instant
  - Faible effectif dans certains groupes ne permettant pas d'obtenir des résultats très significatifs

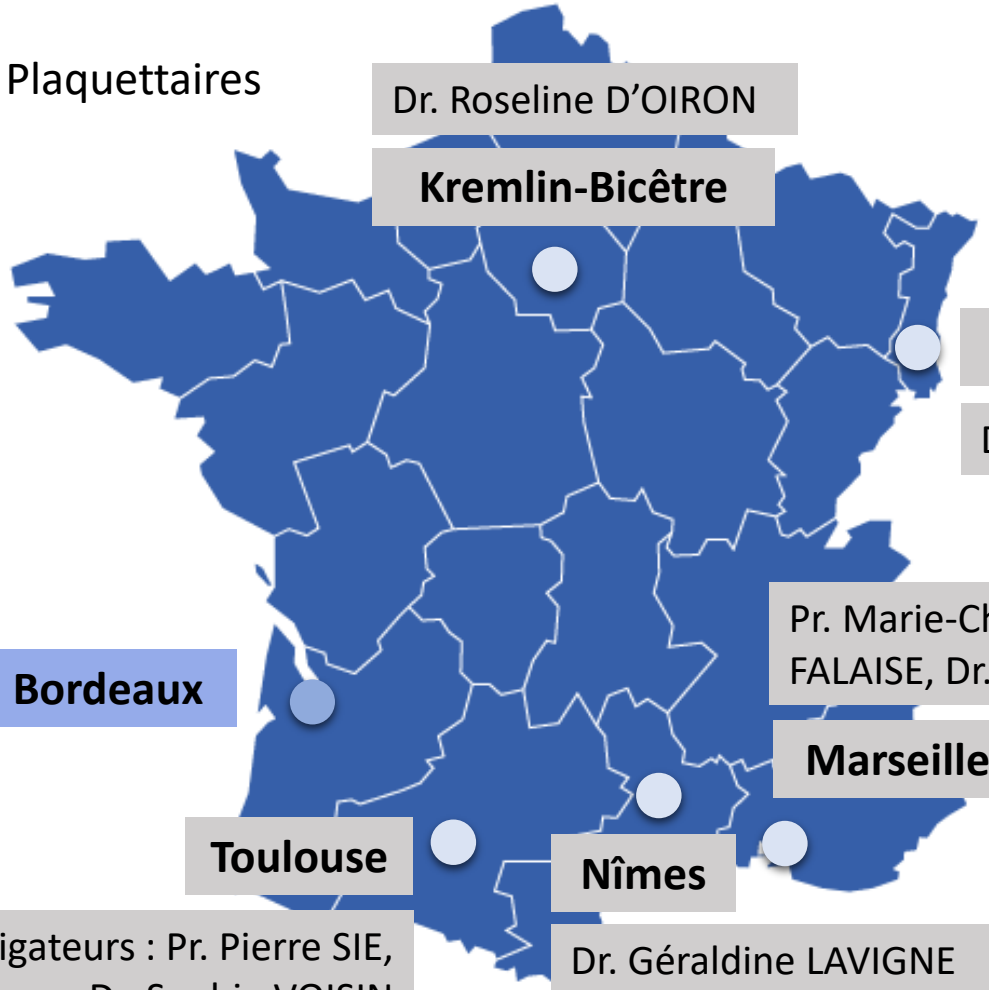
- **Perspectives:**
  - Envisager un recrutement plus large: national ? Européen ?
  - Financement ?

Remerciements

Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires

CRPP

- Techniciens de laboratoire : Patrick BRIGNOLI, Sandra LABORDE, Nathalie ROBERT
- ARC : Valérie GOIN
- Investigateurs : Dr. Mathieu FIORE, Dr. Yoann HUGUENIN



Dr. Roseline D'OIRON

Kremlin-Bicêtre

Strasbourg

Dr. Dominique DESPREZ

Pr. Marie-Christine ALESSI, Dr. Céline FALAISE, Dr. Catherine POUMAYOU

Bordeaux

Marseille

Toulouse

Nîmes

Co-investigateurs : Pr. Pierre SIE, Dr. Sophie VOISIN

Dr. Géraldine LAVIGNE