



Thrombopathies constitutionnelles : physiopathologie, diagnostic et prise en charge

MC ALESSI
Coordonnatrice CRPP
CHU Timone; Marseille



*12èmes Journées Régionales des
Référénts en Hémophilie
Jeudi 4 avril 2019*

Thrombopathies constitutionnelles

Les thrombopathies d'origine constitutionnelle sont un groupe **hétérogène** de pathologies rares.

Elles peuvent concerner **chaque étape de la physiologie plaquettaire**.

Elles sont **isolées, associées** à une thrombopénie ou à des atteintes hématologiques ou extra-hématologiques, on parle alors de thrombopathies syndromiques.

- 26 gènes impliqués

Thrombopathies

Comment les diagnostiquer

- Saignement **cutanéomuqueux** (épistaxis, ecchymoses, ménorragies, saignements chirurgicaux
- Histoire **familiale**
- Exploration Hémostase : **diagnostic d'exclusion**
 - Coagulation normale
 - Fibrinolyse normale
 - Hémostase primaire (vWF normal, exploration plaquettaire spécifique)

Déficit acquis versus déficit constitutionnel

Désordres systémiques

Insuf. rénale, urémie (multifactoriel)
Atteinte hépatique (multifactoriel)
Autoimmunité (anticorps contre des récepteurs)

Désordres hématologiques

Myeloprolifératif
Myelodysplasie

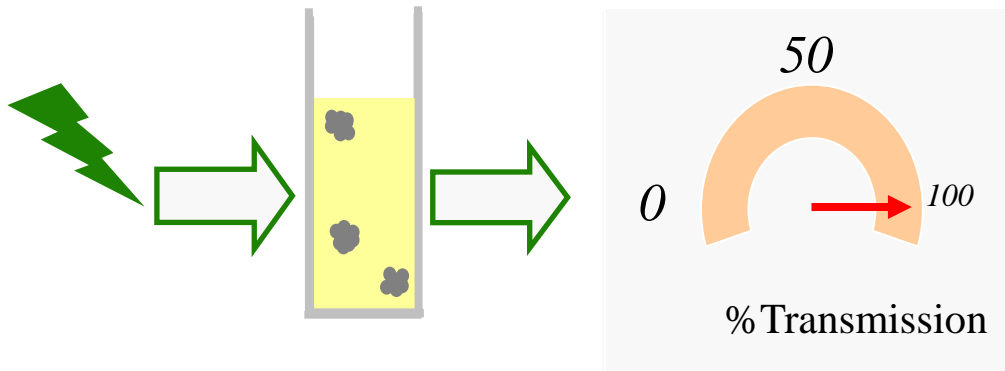
Médicaments qui affectent la fonction plaquettaire

Agents antiplaquettaires
NSAID
Antibiotiques β -lactam
Antifongiques
Modulateurs cAMP ou cGMP
Drogues cardiovasculaires
Hypolipémiants
Psychotropes
Chimiothérapie
Anesthésiques et narcotiques

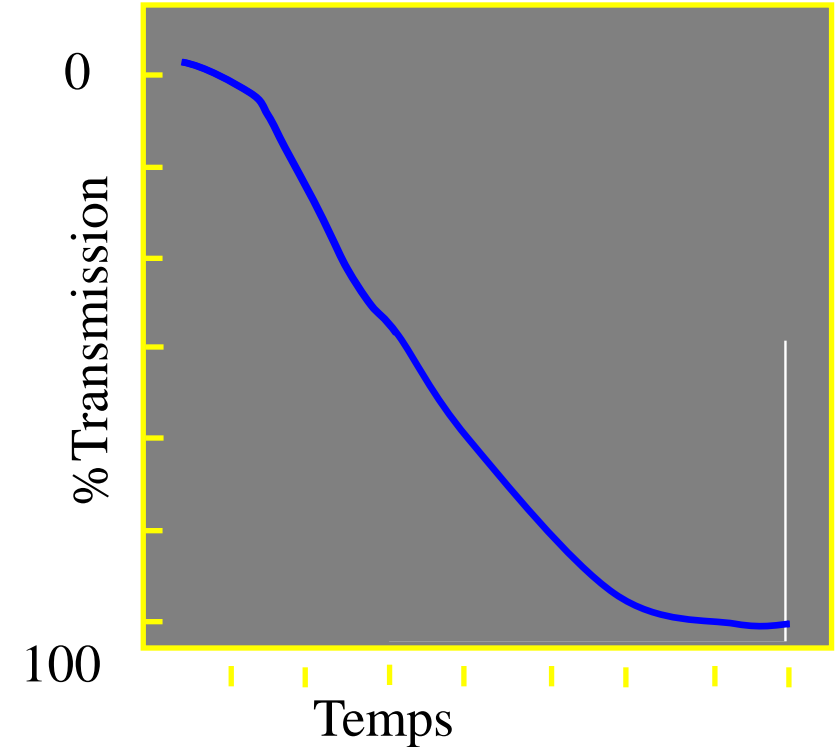
Agrégation plaquettaire

Mesure : transmission lumineuse

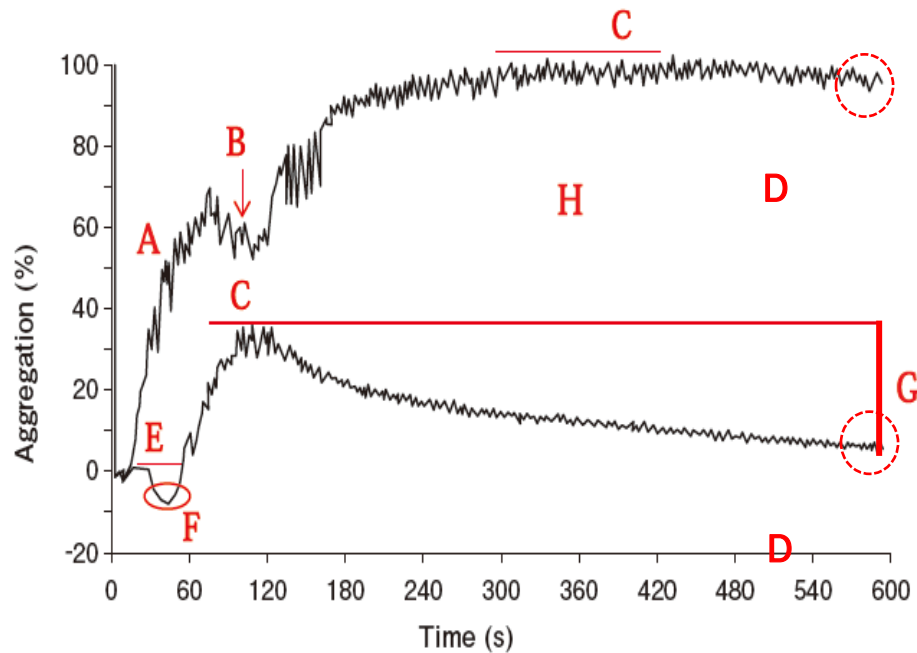
Agoniste : ADP, thrombine adrénaline, collagène



Agoniste ajouté au temps 0



Paramètres mesurés



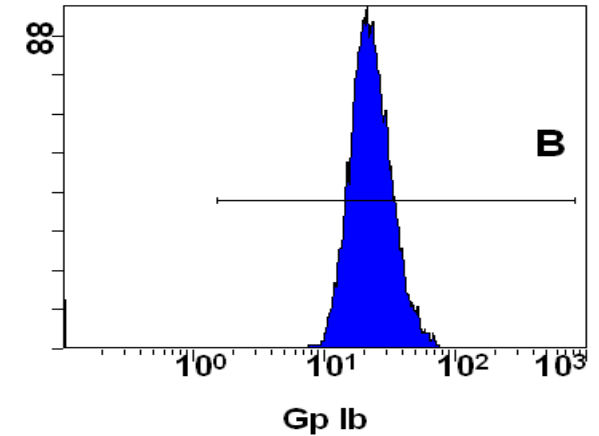
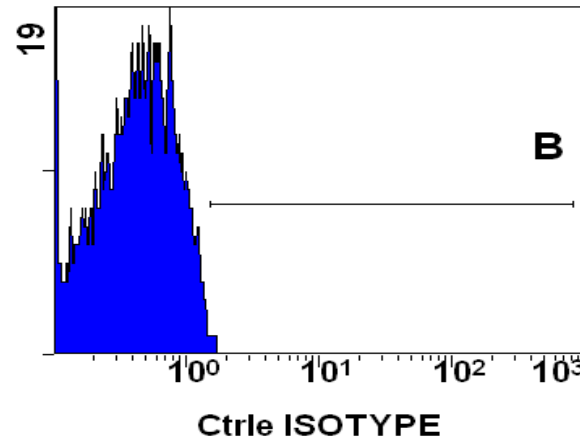
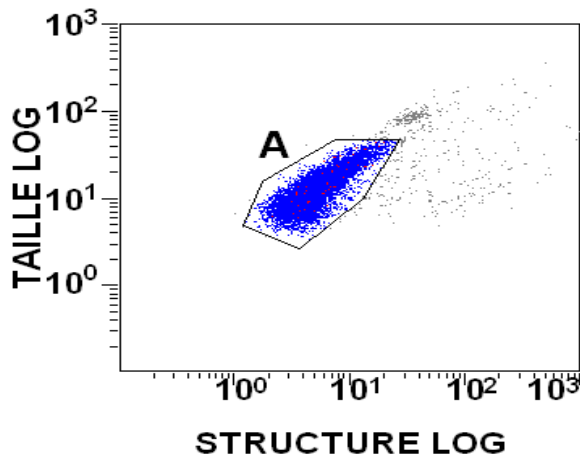
L'interprétation de ces paramètres est souvent la première étape du diagnostic

	ISTH
A	Pente de l'agrégation
B	Deuxième vague
C	Amplitude maximale ou % aggregation
D	Amplitude à la fin de l'agrégation
E	Temps de latence
F	Changement de forme
G	Desagrégation

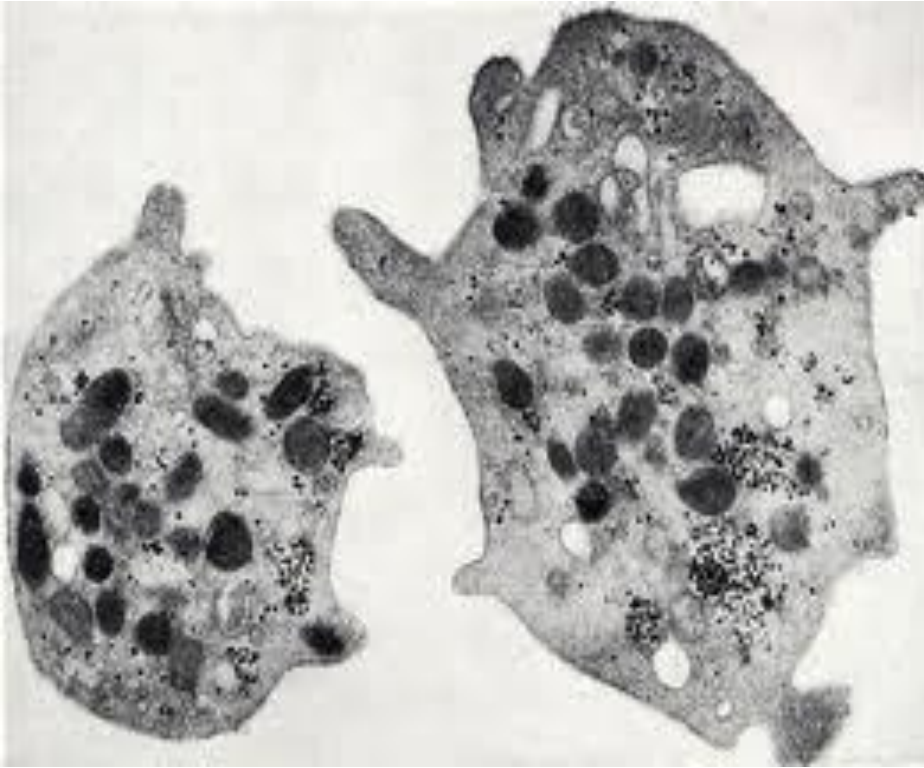
Exploration en CMF

-Principe : Recherche des GlycoProtéines membranaires des PLT: par cytométrie de flux, à l'aide d'Ac spécifiques marqués par des fluorochromes
Recherche de molécules intracellulaires

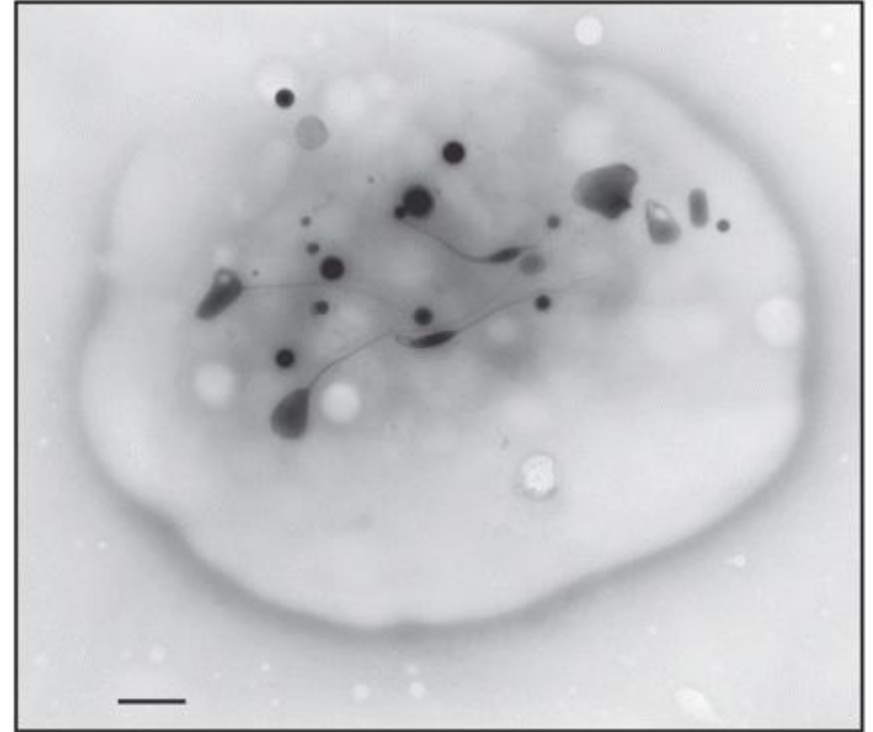
-Anticorps utilisés : anti CD42b (GPIba), CD41 (GPIIb), CD 61(GPIIIa), CD49b (GPIa), PAC-1 (GPIIbIIIa activée), CD62P (P-selectine), CD63 (GP53-LAMP3, granules denses)



Exploration granulaire - Microscopie Electronique

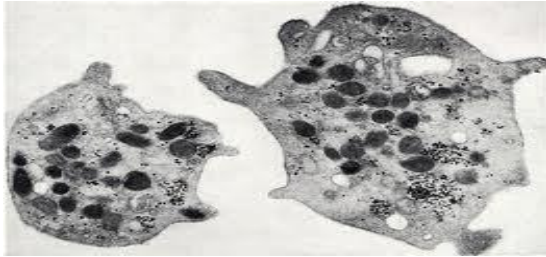


Granules alpha



Granules denses

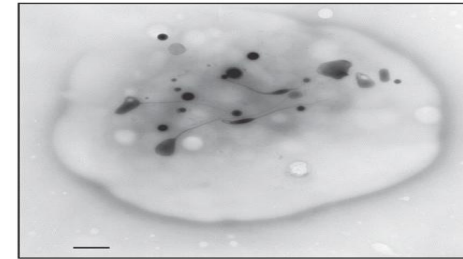
Exploration granulaire - Contenu



Granules alpha

Dosages ELISA :
Willebrand
PAI-1

.....



Granules denses

Dosages ATP/ADP, Sérotonine
Captation libération de la
Mépacrine

.....

Première ligne : recommandations ISTH

Agoniste	Concentration
ADP	2 μ M
Collagène (Horm)	2 μ g/ml
Acide Arachidonique	1 mM
Ristocétine	1.2 mg/ml
Epinéphrine	5 μ M

Deuxième ligne

Concentrations plus élevées d'agonistes,
D'autres agonistes

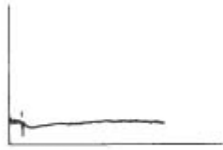
(« Thrombin Receptor Activating Peptide-TRAP », U46419, ristocétine)

Contribution de l'agrégation plaquettaire au diagnostic des thrombopathies

- Pas de réponse à tous les agonistes
- Réponse réduite à plusieurs agonistes
- Réponse modifiée à un agoniste

Pas de réponse à tous les agonistes

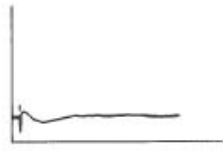
ADP 2 μ M



EPI 5 μ M



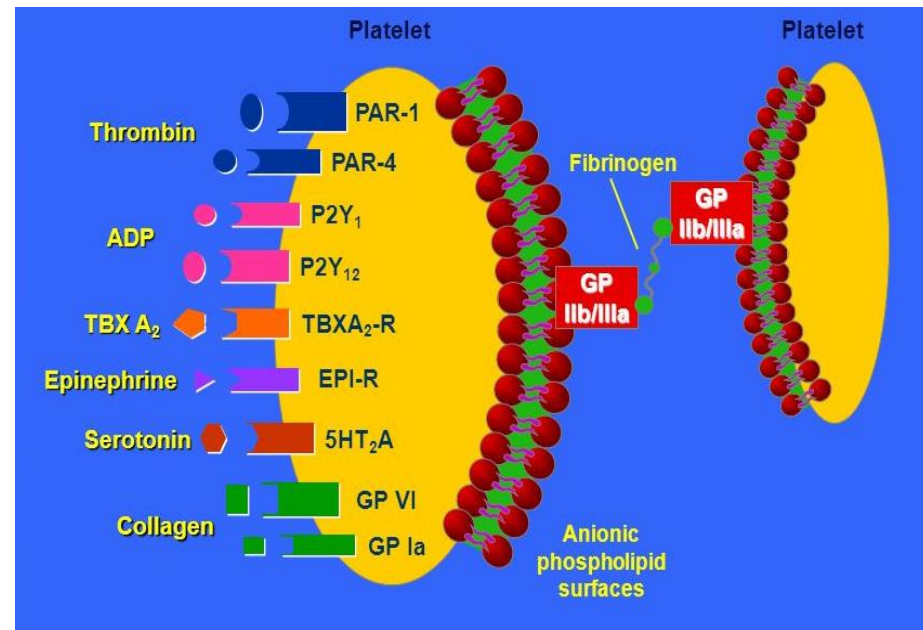
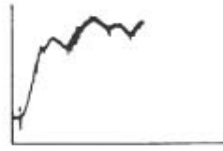
COLL 2 μ g/ml



AA 1 mM

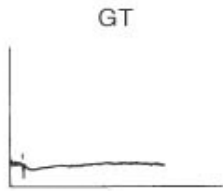


Risto 1.2mg/ml



Pas de réponse à tous les agonistes

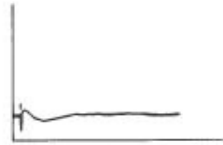
ADP 2 μ M



EPI 5 μ M



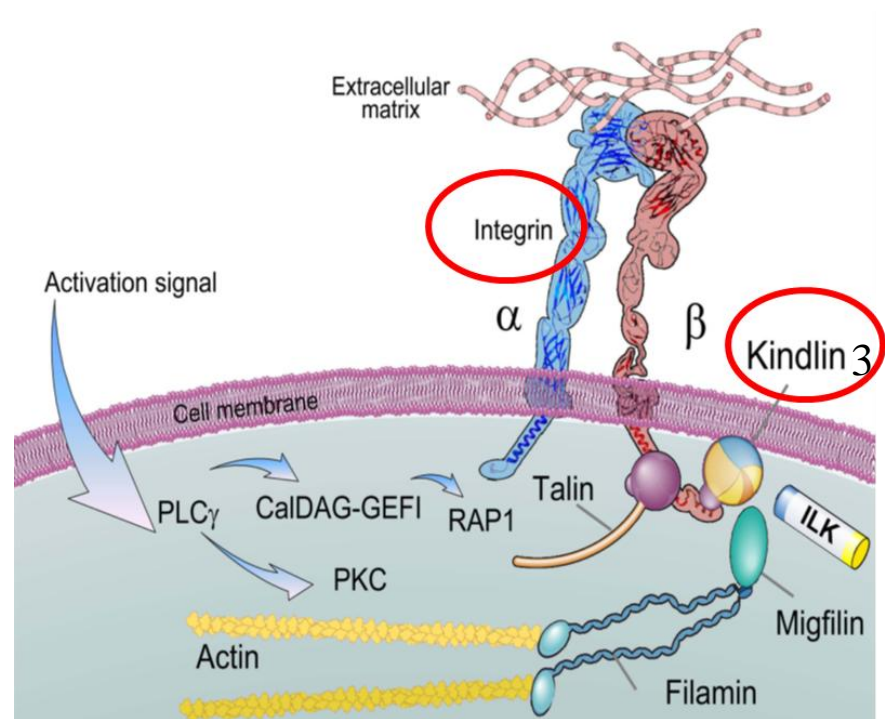
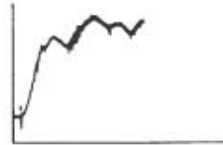
COLL 2 μ g/ml



AA 1 mM



Risto 1.2mg/ml



Pas de réponse à tous les agonistes

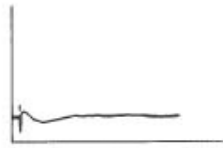
ADP 2 μ M



EPI 5 μ M



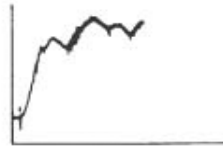
COLL 2 μ g/ml



AA 1 mM



Risto 1.2mg/ml



	GPIIbIIIa Déficit quantitatif	GPIIbIIIa Déficit qualitatif	Kindline 3 Déficit
Saignement	+++	+++	+++
GPIIbIIIa	absente	normale	normale
Transmission	AR	AR	AR
Syndromique	Non	Non	Oui déficit immunitaire
Maladie	thrombasthénie de Glanzmann	Variant de thrombasthénie de Glanzamnn	LADIII

Maladie de Glanzmann

- Autosomique récessif (consanguinité - communauté manouche)
- Saignement cutanéomuqueux
- Coagulation normale, absence de thrombopénie
- Diagnostic : Agrégation plaquettaire et cytométrie en flux
(type I : <5%; type 2 : 5-20% et formes variantes : >20%, voire sub-normale)

Les saignements

- Purpura, tendance ecchymotique.
- Hémorragies muqueuses
 - Epistaxis (75%), gingivorragies, ménorragies (98%)
 - hémorragies GI, cérébro-méningées (2%)
- Hémorragies de section immédiates
- Hémorragies du per et post-partum constantes et prolongées
- Pas ou peu hémarthroses

Pas de réponse à tous les agonistes

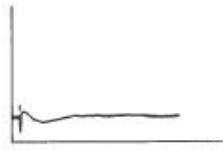
ADP 2 μ M



EPI 5 μ M



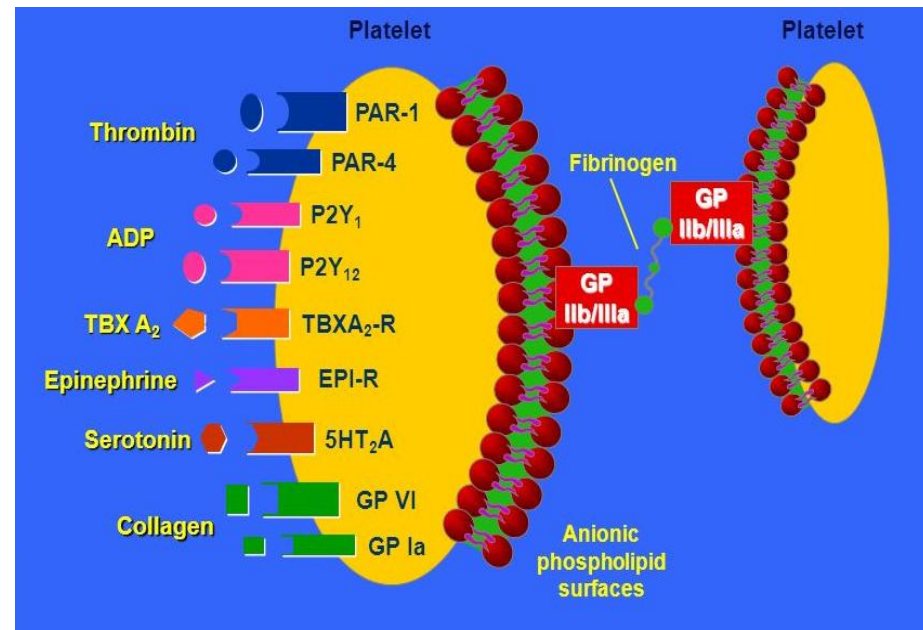
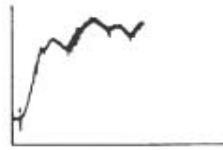
COLL 2 μ g/ml



AA 1 mM



Risto 1.2mg/ml



Pas de réponse à tous les agonistes

ADP 2 μ M



EPI 5 μ M



COLL 2 μ g/ml



AA 1 mM



Risto 1.2mg/ml



	GPIIbIIIa Déficit quantitatif	GPIIbIIIa Déficit qualitatif	Kindline 3
Bleeding	+++	+++	+++
GPIIbIIIa	absente	normale	normale
Transmission	AR	AR	AR
Syndromique	Non	Non	Oui déficit immunitaire
Maladie	thrombasthénie de Glanzmann	Variant de thrombasthénie de Glanzmann	LADIII

Déficit d'adhésion leucocytaire - LADIII

Pathologie autosomique récessive rare

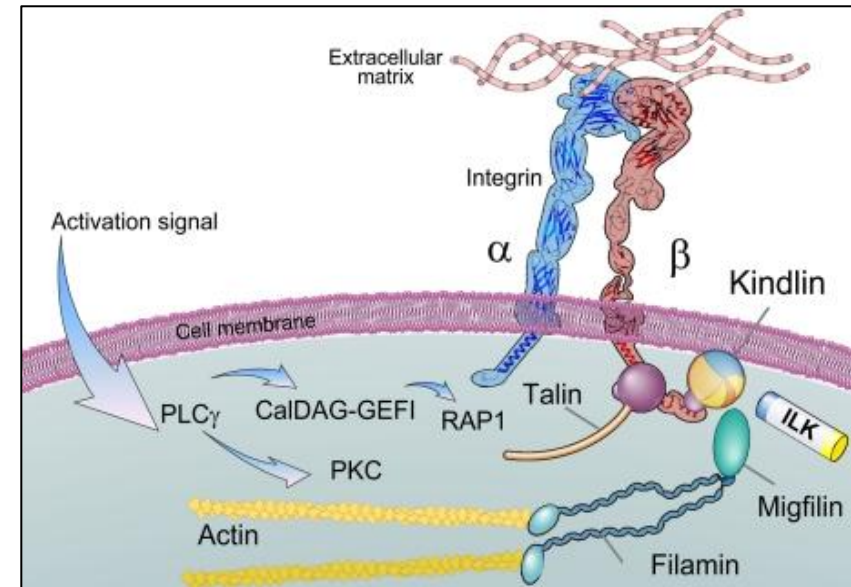
Cause : variants *FERMT3* (protéine kindline-3)
défaut d'activation des intégrines
- dans les leucocytes
- dans la plaquette

Clinique :

- 1) Infections
- 2) Saignements

} précoces et sévères

Traitement proposé dans la littérature :
greffe de cellules souches hématopoïétiques précoce



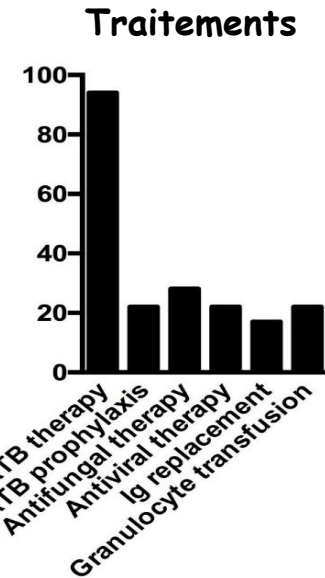
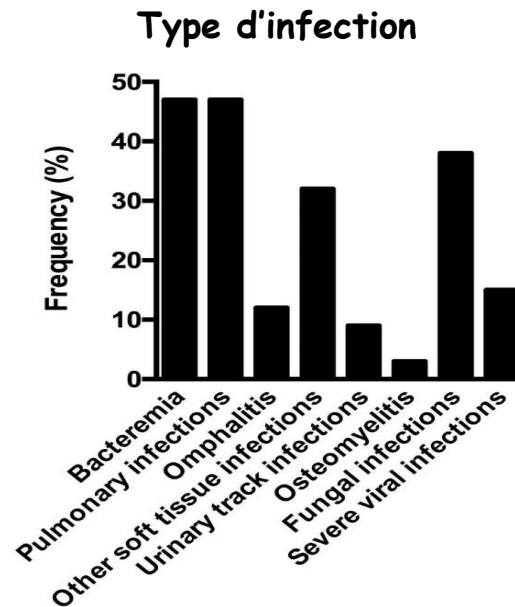
Malinin. Blood 2010;115(20):4011-7.

Déficit d'adhésion leucocytaire : infections

- Infections récurrentes et sévères

Notre patient

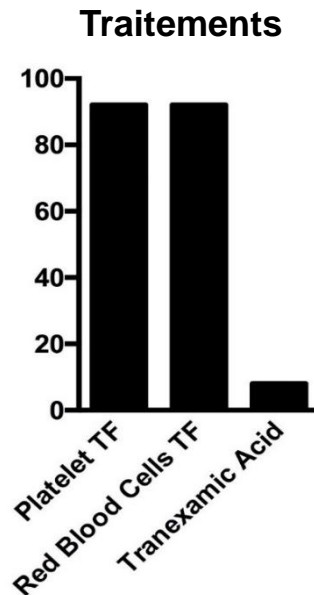
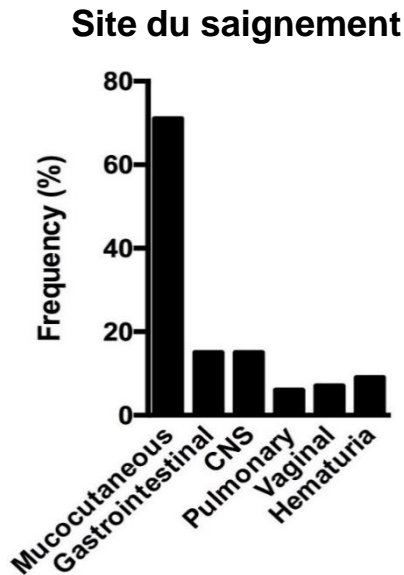
- Pneumocystose à 5 mois
- Prophylaxie antibactérienne et antifongique
- Taux d'IgM and IgG bas → Supplémentation en immunoglobulines polyvalentes depuis l'âge de 10 mois.



Avec ce traitement préventif : absence d'infection sévère

Déficit d'adhésion leucocytaire : saignements

- Saignements sévères fréquents (muco-cutanés +++)
- Transfusions **GR et PLQ** : traitement central (>50 transfusions plaquettaires par an)
- rFVIIa jamais rapporté



Notre patient

Clinique

- **Score ISTH-BAT = 13**
- **Signes hémorragiques depuis la naissance**
- **Saignements sévères** : hématome pénien, hémorragie de la langue, hématurie macroscopique

Traitement

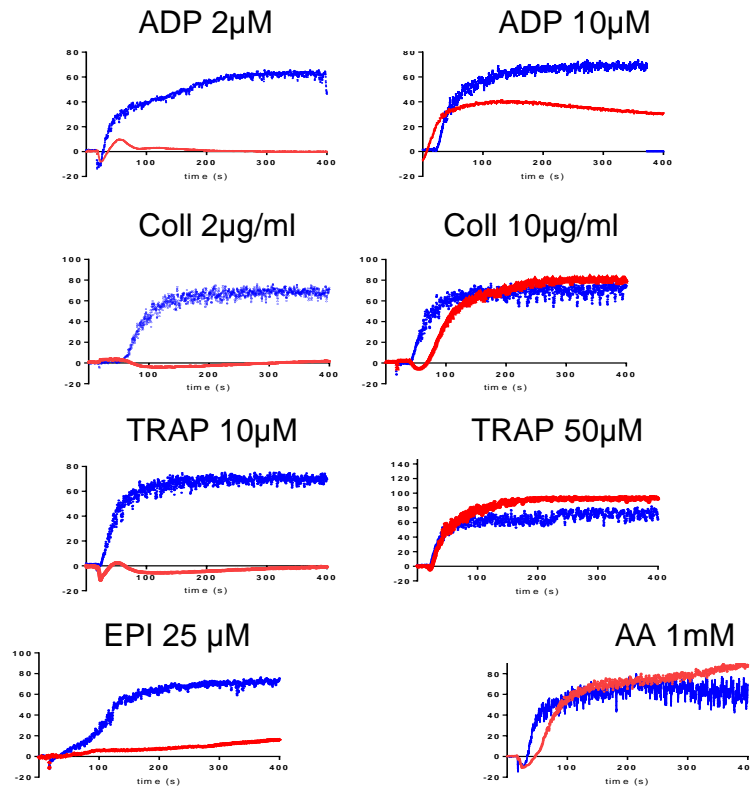
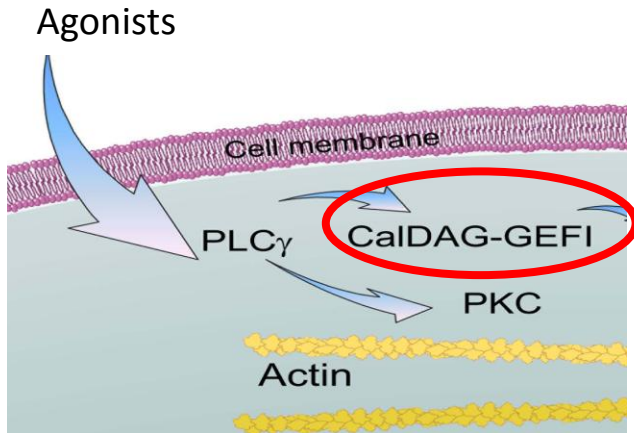
- Une transfusion plaquettaire (hématurie)
- Acide tranexamique : prophylaxie long cours
- rFVIIa (90-120 $\mu\text{g}/\text{kg}$) efficace:
 - traitement des saignements sévères (1-5 doses)
 - prévention (chir dentaire) (1-2 doses)

Contribution de l'agrégation plaquettaire au diagnostic des thrombopathies

- Pas de réponse à tous les agonistes
- Réponse réduite à plusieurs agonistes
- Réponse modifiée à un agoniste

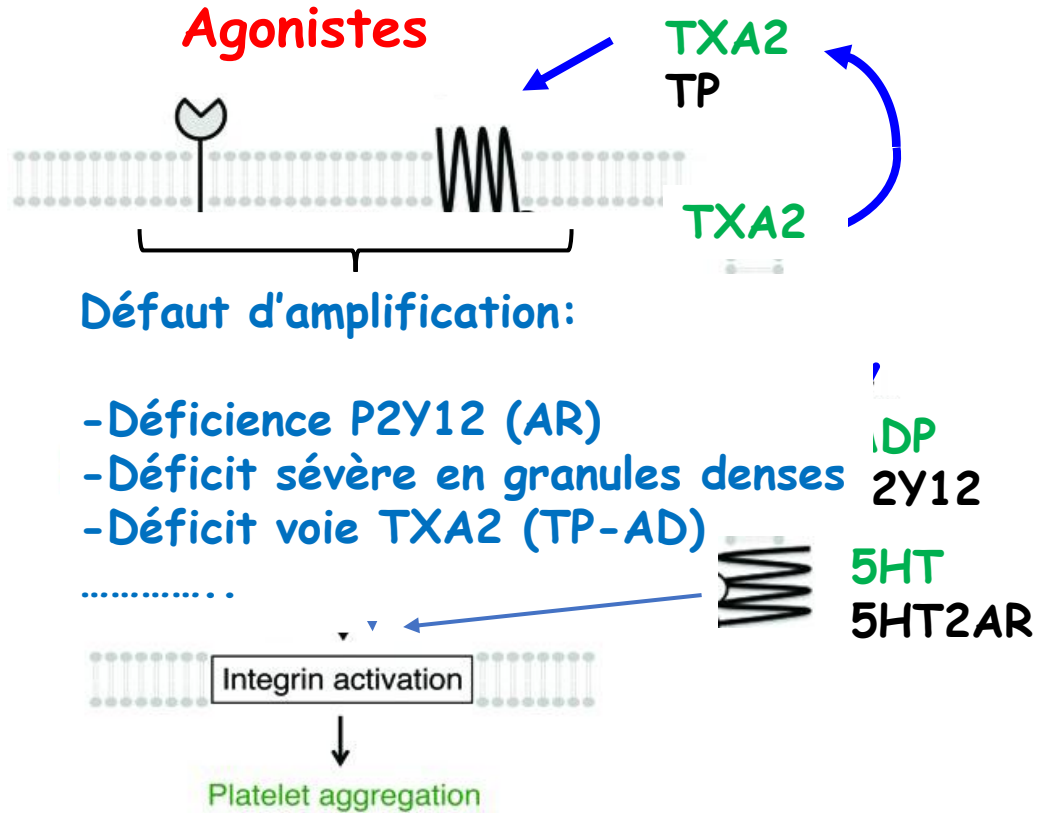
Réponse réduite à plusieurs agonistes

■ Control
■ Patient

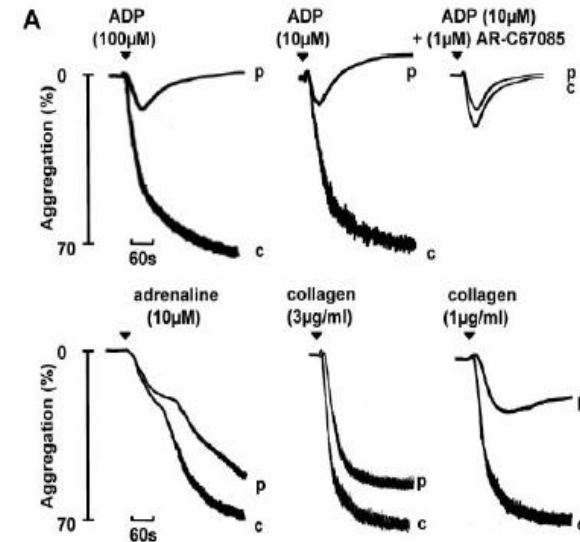


	CaIDAG-GEF1
Saignement	++
GPIIbIIIa	normal
Transmission	AR
Syndromique	No ?
Maladie	CaIDAG-GEF1

Réponse réduite à plusieurs agonistes



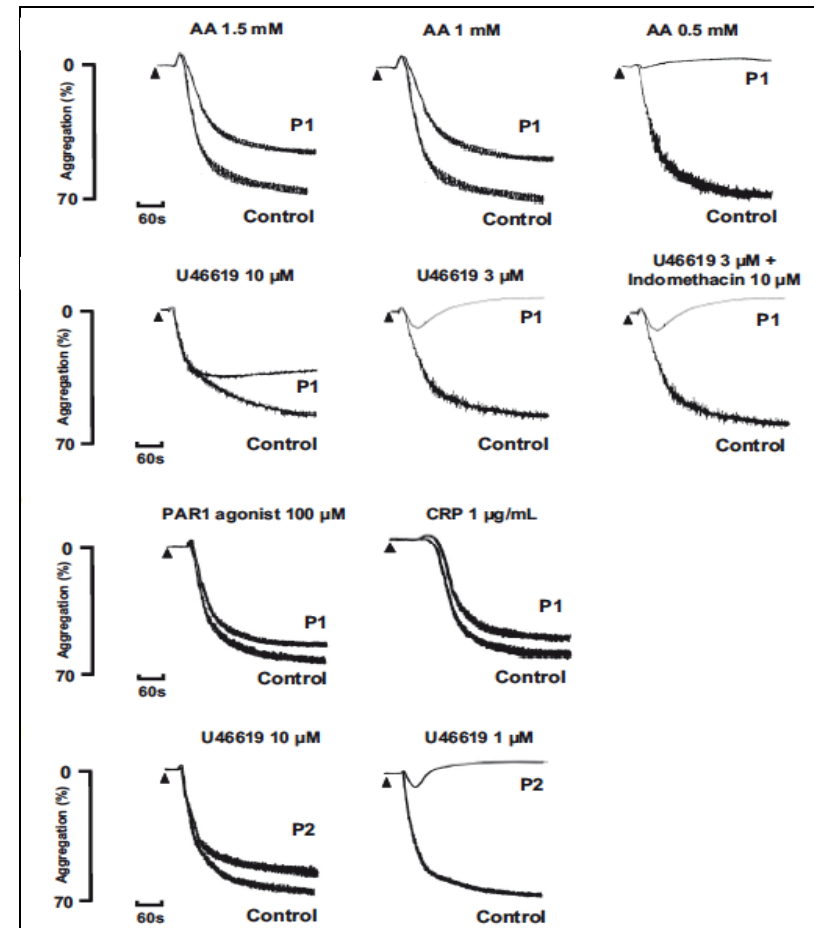
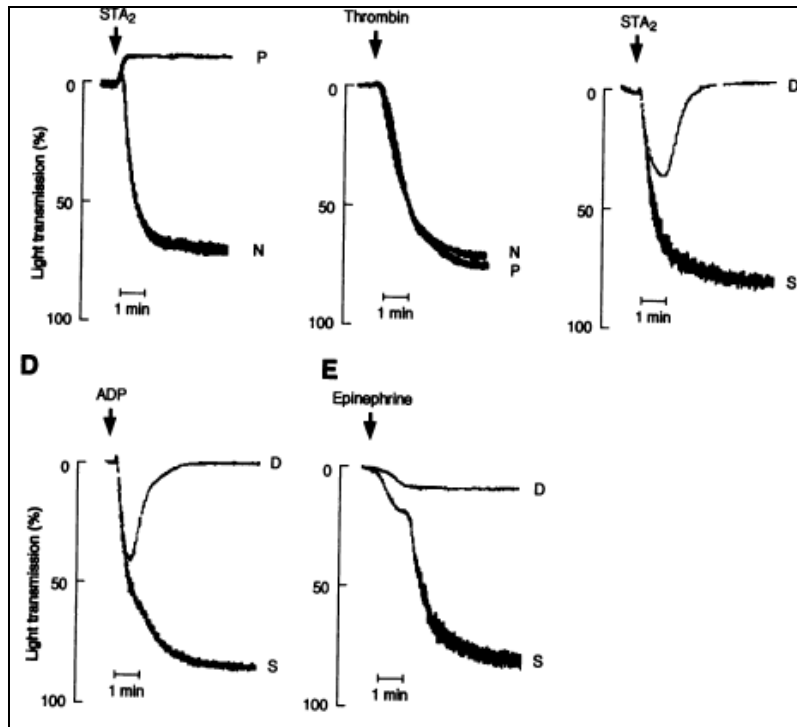
Déficit P2Y12



Anomalies des granules denses (dSPD)

- Clinique: Syndrome hémorragique modéré,
 - albinisme (Hermansky-Pudlak, Chediak-Higashi),
- Biologie:
 - Compte plaquettaire et VMP normal
 - Agreg. = réversibilité ADP, absente au collagène et normale à AA
 - Cytométrie de flux : test à la mépacrine
 - ↓ sérotonine intraplaquettaire ou ATP
 - Microscopie électronique
- Anomalies génétiques:
 - HPS (8 gènes) = protéines impliquées dans le 'process' vésiculaire intracellulaire
 - LYST (régule l'organisation des organelles intracellulaires)

Défaut sévère de réponse à l'acide arachidonique : Mutations TP (AR)



Contribution de l'agrégation plaquettaire au diagnostic des thrombopathies

- Pas de réponse à tous les agonistes
- Réponse réduite à plusieurs agonistes
- Réponse modifiée à un agoniste

Réponse modifiée à un agoniste

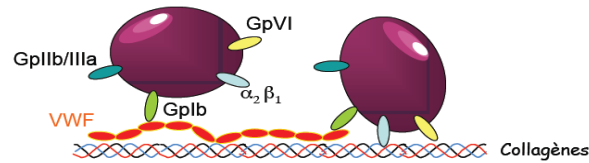
Ristocétine

Collagène

Low or High dose

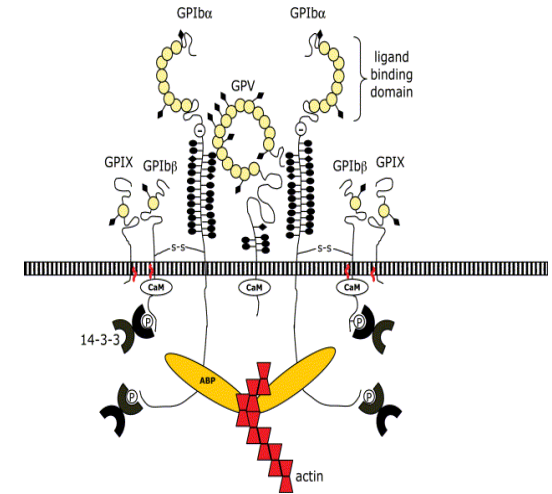
GPIIb/vWF
axis

GPVI

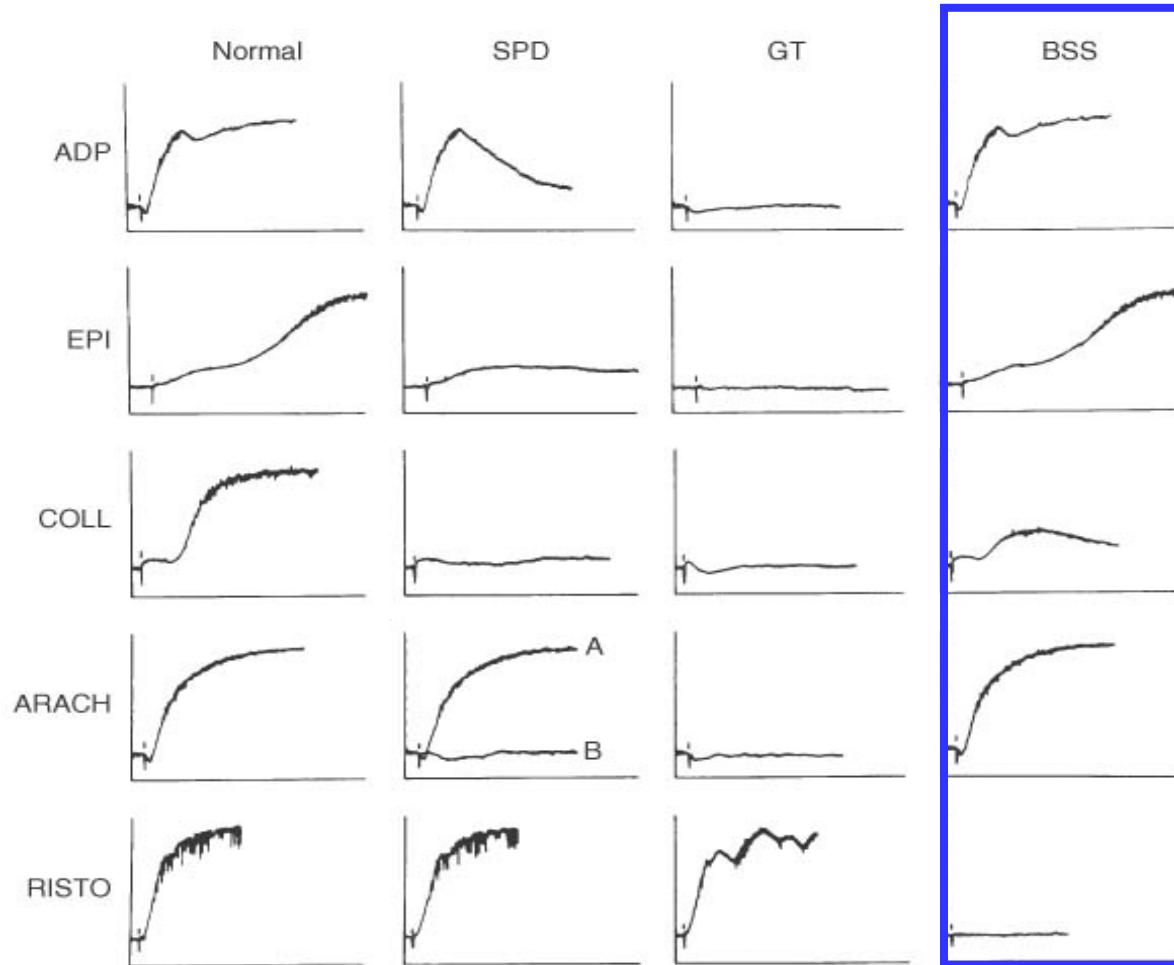


Le Complexe GPIb/IX/V

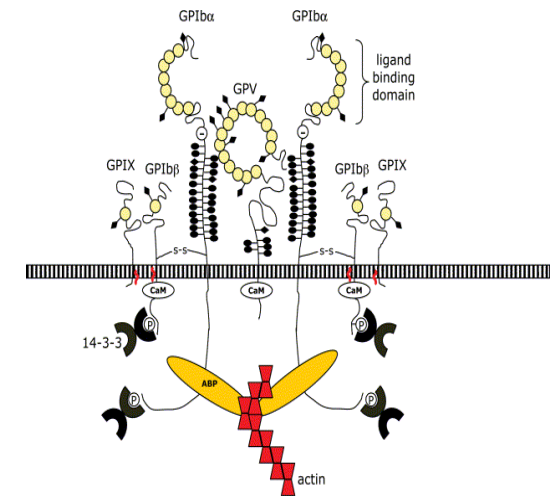
- Exprimé de façon constitutive
- GpIb α et β , Gp IX, Gp V : famille des protéines riches en Leucine
- Rôles principaux Ib α :
 - Liaison au vWF (à forces de cisaillement élevées)
 - Récepteur de la thrombine
- La partie intracellulaire du complexe est liée à de nombreuses protéines du cytosquelette : ABP, filamine, 14-3-3 ζ , PI-3-kinase, SHIP-2 impliquées dans l'activation plaquettaire



Le Complexe GPIb/IX/V : défaut d'agrégation à la ristocétine



Défaut d'agrégation
Maladie de
Jean Bernard Soulier
(Autosomique Récessif)
THROMBOPENIE



Défaut GPIb : mutation gain de fonction Pseudo-Willebrand

- Autosomal dominant
- ↗ liaison vWF - plaquettes
- GPIb α Gly233Val, Gly 233Ser et Met239Val (Asp 235Tyr)
- Clinique et biologie : mime willebrand type IIb
 - syndrome hémorragique
 - Macrothrombopénie
 - allongement du TS
 - excès d'agrégation aux faibles doses de ristocétine
 - Intérêt des tests d'agrégation croisés (plasma /plaq)

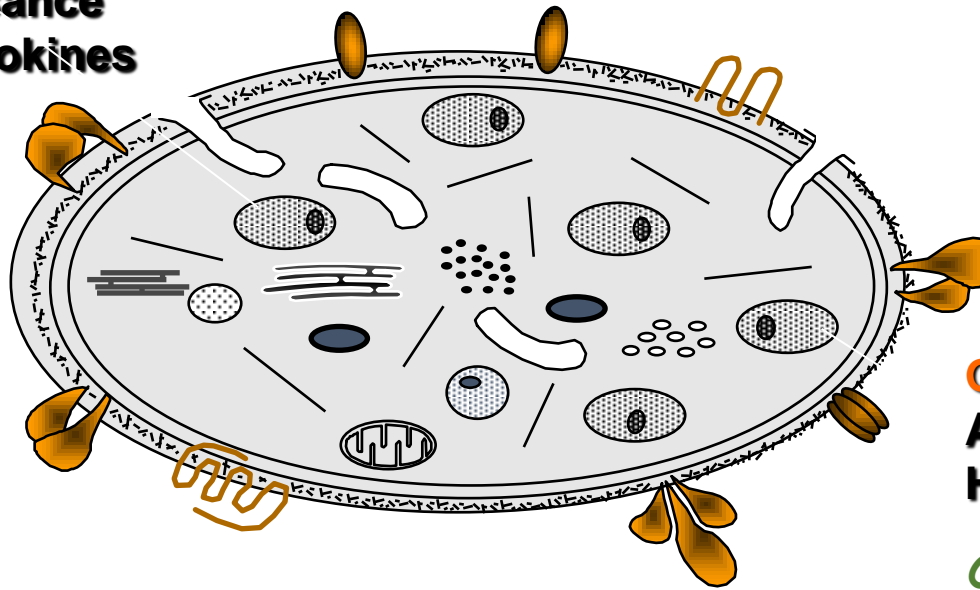
Database : www.pt-vwd.org

Défaut n'altérant pas obligatoirement l'agrégation plaquettaire

Granule alpha

Protéines coagulantes
Facteurs de croissance
cytokines et chemokines

Grey syndrome
Syndrome Quebec



Granules Denses :
ADP/ATP, Ca²⁺, 5-HT
Histamine, sérotonine...

Chediak - Higashi
Hermansky Pudlak
Griscelli syndrome
Pool vide

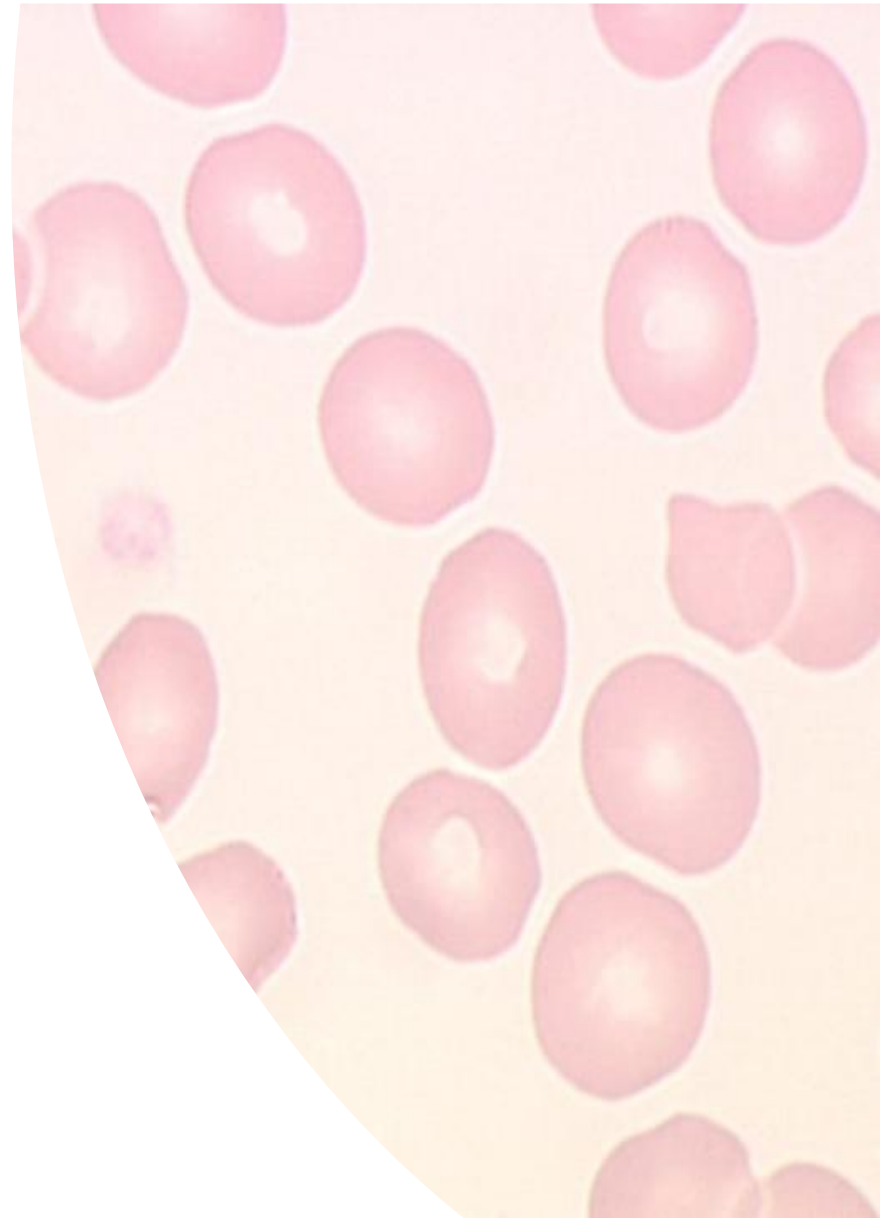
Anomalie des granules alpha

Syndrome des plaquettes grises (AR)

- Anomalie génétique : NBEAL2
- Clinique :
 Syndrome hémorragique,
- Biologie:
 - Morphologie plaquettaire
 - Allongement du TS
 - Thrombopénie qui s'aggrave avec l'âge
 - Agrégation normale (ou anomalies modérées)
 - Dosage (CMF) des composants intraplaquettaires
 - Microscopie électronique

Le syndrome d'arthrogrypose - insuffisance rénale

- cholestase (syndrome ARC - mutation gène VPS33bA)



Thrombopathie : difficulté diagnostic basé sur le phénotype

Orientation vers un gène potentiellement impliqué possible, mais :

- « overlap » de certains phénotypes
- gène parfois de grande taille
- arbre décisionnel (peu de pathologies concernées)

Intérêt du NGS

Phénotypage du patient



Gènes candidats

Séquençage Sanger : **1 gène après l'autre**

Si non informatif : étude de liaison et
identification

Des mois voire des années de travail

Obstacle méthodologique

Faible taux de diagnostic

Séquençage ciblé de **70 gènes**

Série de 24 à 48 patients

Série unique pour la détection de
différentes mutations

1 à 2 mois

(bioinformatique)

Coût raisonnable, délai acceptable

Pour de + en + de patients

Prise en charge thérapeutique - epistaxis

- Position assise, tête légèrement en avant. Mouchage et une compression bidigitale
- Méchage nasal :
 - matériel résorbable de type Surgicel® ou Nasopore®, les mèches d'alginate de calcium (Algosteril®, Urgo-sorb®) et les mèches grasses (Jelonet®) Des colles résorbables à base de gélatine (Surgiflo®, Flo-seal®)
- Exacyl®
- Persistance du saignement, récurrence après déméchage, le saignement d'emblée important, la présence de comorbidités → urgence

Prise en charge thérapeutique

Les saignements de gencives (gingivorragies)

Bains de bouche exacyl® 3 fois par jour.

Alimentation semi-liquide et froide

Instaurer visite obligatoire chez le dentiste (à l'hôpital ?)

Les plaies superficielles

Désinfection et compression à l'aide de compresses imbibées d'acide d'Exacyl®.

Des compresses hémostatiques de type bolxang®, Coalgan®, Algosteril® ou

Stop-hemo® peuvent être utilisées.

En cas d'ecchymoses

Compression, poche de glace, Arnica®, paracétamol et Exacyl® (3g/j en 3 prises) Surveiller la taille de l'ecchymose.

Si aggravation → Urgences et Centre de suivi

Ménorragies

Fréquent : 73.6 à 98.2% des patientes atteintes de Thrombasthénie de Glanzmann

Sévérité : Source d'anémie et d'hémorragie sévère

Un **score de Higham** > 100 équivaut à une perte sanguine de 80 ml avec une sensibilité de 86%

Première règles : cycle anovulatoire avec prolifération endométriale excessive

Équipe multidisciplinaire de gynéco-endocrino-pédiatre (surveillance clinique et echo suspubienne)

Mise sous oestroprogestatif.

Stratégie thérapeutique (partenariat gynéco hématologue): Traitement hormonal OP ou P+/- exacyl, DIU à base de levonorgestrel possible. Traitement qui va crescendo (séquentiel puis continu, ménopause artificielle)

Ce qui n'est pas recommandé: Les pilules microprogestatives et le dispositif implantable (Implanon®) les DIU au cuivre simple sont déconseillés. Minirin par voie nasale inefficace.

Suivi : vérifier l'efficacité et modifier le traitement.

Ménorragies sévères

Hb < 8g/l avec un retentissement sur l'état général

- **Hospitalisation**
- **Oestrogènes** à visée hémostatique à forte dose (ex Minidril® 3 cp) puis dose dégressive et poursuite sur plusieurs semaines
- **Acide tranéxamique** (Exacyl®)
- Traitements plus spécifiques (**concentrés plaquettaires, rVIIa**).

- **Extrême** : thermocoagulation, résection endométriale, embolisation de l'artère utérine, voire hystérectomie comme solution définitive. Ces gestes devront être encadrés par des mesures hémostatiques (plaquettes, facteur VII activé).

Prise en charge thérapeutique



Toute douleur abdominale mérite une attention

Devant des céphalées brutales +/- nausées/ vomissements, troubles de la vigilance, de la vision,

En l'absence d'hémorragie à l'imagerie, une surveillance hospitalière doit être instaurée plus ou moins sous couvert d'un traitement hémostatique jusqu'à la réalisation d'un 2ème scanner en raison d'un risque d'hématome secondaire.

Saignements digestifs par angiodysplasie

Manque d'études

Traitement local, somatostatine, Octréotide, hormonothérapie, bevacizumab

Les concentrés plaquettaires

- MCP ou CPA ou CPA HLA compatible.

En cas de pathologies plaquettaires sévères, il pourrait être préférable de transfuser, si possible, de façon systématique des CPA HLA-compatibles et éviter ainsi le risque d'allo-immunisation.

- 0,5 à 0,7 × 10¹¹ plaquettes pour 10 kg de poids (HAS - 2015). En situation néonatale, la posologie souhaitée est de 0,1 à 0,2 × 10¹¹ plaquettes par kg de poids.
- En cas de chirurgie mineure : une seule transfusion prophylactique et renouveler les transfusions ultérieures en fonction de la situation clinique. Couvrir les 24-48 premières heures .
- En cas de chirurgie majeure, une nouvelle transfusion plaquettaire en fonction de la situation clinique ou de façon systématique à la 12^{ème} heure de la chirurgie. Couvrir 6 à 10 j .

Anticorps antiplaquettes

- Risque d'apparition d'anticorps dirigés contre les glycoprotéines $\alpha\text{II}_{\text{Ib}}\beta_3$ (GPIIb-IIIa).
 - recherche d'anticorps $\alpha\text{II}_{\text{Ib}}\beta_3$ (GPIIb-IIIa) **dans le bilan initial**. (technique MAIPA)
 - Rechercher les anticorps anti- $\alpha\text{II}_{\text{Ib}}\beta_3$ (GPIIb-IIIa) et anti HLA **1 à 3 mois** après chaque transfusion (CGR et/ou PLT).
 - **Phénotypage HLA et HPA**

Anticorps antiplaquettes

- La présence d'anticorps anti-plaquettes n'est pas toujours prédictive d'une inefficacité transfusionnelle et ne doit pas à elle seule constituer une contre-indication à la transfusion de concentrés plaquettaires.
- L'absence ou la mauvaise efficacité transfusionnelle plaquettaire ne fait pas l'objet de critères bien définis dans la prise en charge de ces pathologies. Elle fait intervenir des critères cliniques (persistance des saignements) et/ou biologiques (taux d'hémoglobine, numération plaquettaire).
- L'efficacité biologique des transfusions plaquettaires peut être appréciée dans la TG par une évaluation quantitative des plaquettes transfusées par cytométrie en flux

Prise en charge thérapeutique - rFVIIa, Novoseven®

- Patients TG immunisés, et réfractaires aux transfusions plaquettaires
- 80 à 120 µg/kg sous forme de bolus en IV lente.
- Répéter injections toutes les 2 à 3 heures puis espacement progressif sur quelques jours selon les circonstances et l'évolution clinique.
- Au moins 3 injections avant de juger de l'échec éventuel du traitement. (1 à 2 à l'arrêt du saignement)
- À l'heure actuelle, le rFVIIa n'a pas d'AMM dans le traitement des pathologies plaquettaires sévères apparentées à la TG.
- *En cas de chirurgie mineure (ex. Extractions de dents de sagesse,...), la durée moyenne de couverture proposée est de 24 à 48 h.*
- *En cas de chirurgie majeure (ex. Prothèse totale de hanche,...) couvrir par du rFVIIa une période de moins de 10 j en post-opératoire, en cas d'évolution favorable.*

Prise en charge thérapeutique - rFVIIa, Novoseven®

- L'utilisation hors-AMM du rFVIIa dans la TG peut se discuter : Elle concerne plus particulièrement le sujet jeune, et surtout les **femmes en âge de procréer**, du fait du risque des anticorps anti-GPIIb-IIIa en cas de grossesse.
- Il n'y a pas de test biologique spécifique à réaliser pour surveiller l'efficacité d'un traitement par du FVIIa recombinant. Seule est à prendre en compte **l'efficacité clinique** du traitement (arrêt des saignements).
- Bien que l'administration concomitante de rFVIIa et d'exacyl soit possible, il convient de rester prudent quant au risque thrombotique, selon les circonstances, en particulier si cette association est prolongée.

Suivi au CRC

- Beaucoup de social (écoute, certificat)
- Evaluation régulier du phénotype hémorragique avec bilan martial
Traitement par ferinject ou veinofér
- Evaluation de l' état clinique avec parfois substitution au médecin traitant qui peut ne pas exister
- Rappel des contre-indications
- Organisation de la prise en charge pluridisciplinaire (suivi dentaire, ORL, gynéco...)
- Trousse de secours
- Carte de soins
- Programme d'éducation thérapeutique
- Programme d'accueil individualisé



Lab hématologie CHU Timone
Inserm Fac Médecine



M.C. Alessi	M Poggi
M Canault	C. Grosdidier
P.E. Morange	K. Pouymayou
N. Saut	M.F. Aillaud
D. Ghalloussi	F. Pereitti

Laboratoire de Génétique, CHU Timone
Inserm Faculté Timone

N Levy
C Bérourd



Coordinateur : MC Alessi
Elsa Alvarez : chef de projet
Médecins consultants : C Pouymayou
C Falaise
Exploration plaquettaire CHU Timone

Travail Collaboratif :

