

# COMMENT J'EXPLORE...

## LES THROMBOPÉNIES ET THROMBOPATHIES CONSTITUTIONNELLES

HARKATI R (1), PÉTERS P (2), GOTHOT A (3), STAQUET B (4), ANDRÉ M (5)

**RÉSUMÉ :** Les thrombopénies et thrombopathies constitutionnelles constituent un ensemble de pathologies rares dont le diagnostic est souvent difficile car il nécessite le recours à des analyses biologiques souvent réservées à des centres spécialisés. Elles sont probablement sous-diagnostiquées. Le clinicien devra les envisager devant une thrombopénie chronique ne répondant pas aux immunoglobulines intraveineuses et aux corticoïdes et la présence d'antécédents familiaux. Une thrombopénie syndromique sera suspectée en fonction des éléments de l'anamnèse familiale et de signes cliniques spécifiques. La confirmation du diagnostic nécessitera la réalisation d'examen biologiques spécialisés (agrégation plaquettaire, cytométrie en flux, microscopie électronique, tests de sécrétion, caryotype et biologie moléculaire).

**MOTS-CLÉS :** *Thrombopénie - Thrombopathie - Test d'agrégation plaquettaire - Cytométrie en flux - Biologie moléculaire*

### HOW TO EXPLORE... INHERITED PLATELET DISORDERS

**SUMMARY :** Inherited platelet disorders (IPD) include a set of rare diseases whose diagnosis is often difficult because it requires the use of complex biological assays in specialized centers. They are probably under-diagnosed. Clinicians should consider an IPD when facing a chronic thrombocytopenia resistant to intravenous immunoglobulins (IVIg) and steroids together with a family history of thrombocytopenia. A syndromic thrombocytopenia will be suspected by the family survey and specific clinical signs. The confirmation of the diagnosis will then require the use of specialized biological assays such as platelet aggregation, flow cytometry, electron microscopy, platelet secretion assays, karyotype and molecular biology.

**KEYWORDS :** *Thrombocytopenia - Platelet function disease - Platelet aggregation test - Flow cytometry - Molecular biology*

## INTRODUCTION

La survenue d'une thrombopénie isolée chez un enfant fait le plus souvent évoquer un purpura thrombopénique immunologique (PTI). Il convient cependant de ne pas passer à côté de diagnostics beaucoup plus rares tels que les thrombopénies et thrombopathies d'origine constitutionnelle. Le diagnostic de telles pathologies nécessite un examen clinique rigoureux à la recherche de signes d'appel précis permettant d'évoquer certains syndromes spécifiques, une enquête familiale complète, mais également la réalisation d'examen complémentaires biologiques souvent disponibles uniquement dans des centres spécialisés. L'application d'une démarche diagnostique adéquate permettra d'éviter les retards diagnostiques et l'instauration d'une prise en charge et d'un suivi adaptés.

## QUAND ENVISAGER UNE THROMBOPÉNIE CONSTITUTIONNELLE ?

Les thrombopénies constitutionnelles sont extrêmement rares, mais doivent être envisagées chez tout patient présentant une thrombopénie chronique associée à des dysmorphies, à des pathologies non hématologiques et/ou une morphologie plaquettaire anormale établie sur le frottis sanguin. Il faut remettre en question le diagnostic de PTI si l'évolution n'est pas classique ou si l'intensité de la symptomatologie n'est pas corrélée à la numération plaquettaire et fait suspecter une thrombopathie associée à une thrombopénie. Le diagnostic des thrombopathies constitutionnelles reste difficile et elles sont parfois diagnostiquées seulement à l'âge adulte. Leur caractérisation fait partie du domaine du spécialiste, mais il faut savoir quand les envisager afin de référer le patient le plus tôt possible.

Les éléments cliniques et biologiques en faveur d'une thrombopénie constitutionnelle sont les suivants :

- thrombopénie chronique résistante aux immunoglobulines intraveineuses et aux corticoïdes chez un patient suspect de PTI;
- présence d'antécédents familiaux de diathèse hémorragique, de thrombopénie;
- présence d'une consanguinité pouvant orienter vers des maladies autosomales récessives;

(1) Médecin assistant en Biologie Clinique, ULiège, Belgique.

(2) Chef de Laboratoire, Service d'Hématologie biologique et Immuno-Hématologie, Unité de Thrombose-Hémostase, CHU Liège, Belgique.

(3) Professeur, Chef de Service d'Hématologie biologique et Immuno-Hématologie, Département de Biologie Clinique, CHU Liège, Belgique.

(4) Médecin Biologiste, Service de Biologie Clinique, Clinique Saint-Pierre, Ottignies-Louvain-La-Neuve, Belgique.

(5) Médecin Biologiste, Service de Biologie Clinique, Hôpital de Libramont, Belgique.

- signes cliniques associés : dysmorphie, eczéma, infections à répétition, surdité, néphropathie;

- anomalies morphologiques des plaquettes ou anomalies des autres lignées sanguines.

L'examen clinique tâchera donc de rechercher toute malformation anatomique (dysmorphie faciale, anomalies des membres supérieurs), une éventuelle surdité, des lésions cutanées, une cataracte. Un suivi de la courbe de croissance sera réalisé afin de diagnostiquer un éventuel retard staturo-pondéral.

L'utilisation de scores, notamment le «bleeding assessment tool» (ISTH-BAT score) permettra d'évaluer l'intensité du syndrome hémorragique (sans pour autant permettre une distinction des différentes thrombopénies et thrombopathies constitutionnelles). Les valeurs normales varient en fonction de l'âge et du sexe : 0-3 pour les hommes, 0-5 pour les femmes et 0-2 pour les enfants (1). Ce syndrome hémorragique sera variable en fonction du type de pathologie, mais également en fonction de l'individu pour la même maladie. L'intensité ne sera pas nécessairement corrélée à la numération des plaquettes : une thrombopénie modérée avec thrombopathie associée donnera une symptomatologie plus importante que certaines thrombopénies sévères ( $< 20.000/mm^3$ ).

## QUELS EXAMENS COMPLÉMENTAIRES DEMANDER ?

L'hémogramme automatisé permettra non seulement la numération des plaquettes, mais également une estimation du volume plaquettaire moyen, paramètre important pour la classification des thrombopénies. Un examen de la morphologie plaquettaire au microscope devra être réalisé afin de vérifier l'absence d'agrégats plaquettaires pouvant sous-estimer la numération plaquettaire. Un phénomène bien connu est la pseudo-thrombopénie à l'EDTA, l'anticoagulant présent dans les échantillons sanguins destinés à l'hémogramme. En effet, certains patients présentent un anticorps dirigé contre un site cryptique de la GPIIb-IIIa plaquettaire. Ce site cryptique est démasqué en présence d'EDTA permettant la fixation de l'anticorps sur les plaquettes et donc l'agglutination plaquettaire. Les pseudo-thrombopénies à l'EDTA comptent pour environ 10 à 20 % des thrombopénies découvertes au laboratoire. Dans ce cas, un contrôle sera réalisé sur un prélèvement anticoagulé par du citrate, permettant d'éliminer cette interférence. Le frottis sanguin permettra

d'étudier la morphologie plaquettaire et la présence d'anomalies morphologiques des autres lignées sanguines, ce qui revêt une importance majeure dans le diagnostic différentiel.

Le temps d'occlusion plaquettaire (PFA<sup>®</sup> pour «platelet function assay») est un test permettant une évaluation rapide et globale de l'hémostase primaire. Ce test simule le colmatage d'une brèche vasculaire par le passage d'un échantillon de sang citraté à travers l'orifice d'une membrane de nitrocellulose recouverte de collagène et d'un activateur plaquettaire (ADP ou épinéphrine). Ce test remplace le temps de saignement désormais désuet.

Le dosage de l'antigène de von Willebrand, de l'activité cofacteur de la ristocétine et du facteur VIII permettra de rechercher une thrombopénie due à une maladie de von Willebrand type 2B. Cette pathologie est due à une affinité accrue du FvW pour les plaquettes pouvant mener à une thrombopénie modérée, voire sévère.

Les tests d'agrégation plaquettaire en présence de différents agonistes permettront de préciser le diagnostic. Ces examens consistent en l'étude photométrique de l'agrégation plaquettaire en présence de différents inducteurs, dont les principaux sont l'ADP, l'épinéphrine, l'acide arachidonique, le collagène, la ristocétine, le thromboxane et un analogue de la thrombine («Thrombin Receptor Activating Peptide», TRAP-6).

La lumi-agrégométrie est un test permettant de combiner l'étude de l'agrégation plaquettaire et la mesure de la sécrétion de l'ATP plaquettaire. L'ATP relargué par les plaquettes entraîne une production de photons au contact d'un réactif spécifique (système luciférine-luciférase). Cette technique est utile dans la mise au point des thrombopathies associées à un déficit des granules denses (delta) plaquettaires. Il faut néanmoins remarquer que les tests d'agrégométrie et de lumi-agrégométrie nécessitent la préparation d'un concentré plaquettaire, ce qui nécessite un grand volume de sang, 10 à 20 ml, et peut se révéler impossible à réaliser si la thrombopénie est sévère.

La cytométrie en flux est une technique qui présente l'avantage d'être réalisable avec un faible volume de sang (important notamment en pédiatrie) et même en cas de thrombopénie. Elle permet de diagnostiquer certaines thrombopénies/thrombopathies constitutionnelles de deux façons : 1) par la recherche d'un déficit d'une glycoprotéine de la membrane plaquettaire (GPIb, GPIIb/IIIa principalement); 2) la mise en évidence d'un déficit sécrétoire (absence d'expression de la P-sélectine après activation

plaquettaire par un agoniste, test à la mépa-crine).

Un médullogramme pourra également être envisagé en fonction du contexte. Il nous donnera des informations directes sur la lignée mégacaryocytaire. Il permettra de mettre en évidence le caractère hypo- ou aplasique de cette lignée.

La microscopie électronique permet une étude fine et précise de la morphologie plaquettaire et des organelles intracytoplasmiques. Elle revêt une importance majeure dans le diagnostic des thrombopathies par déficit en granules (syndrome des plaquettes grises, maladie du pool vide, syndrome de Chediak-Higashi, syndrome d'Hermansky-Pudlak).

Le dosage de la thrombopoïétine (TPO) peut orienter sur l'origine de la thrombopénie (périphérique ou centrale). La concentration moyenne de TPO est d'environ 100 pg/ml. Cette

concentration est inversement proportionnelle à la masse plaquettaire totale générée par la moëlle hématopoïétique. Le taux de TPO sera normal en cas de thrombopénie par hyperdestruction et augmenté en cas d'hypoproduction par thrombopénie centrale.

La réalisation d'un caryotype sera également proposée dans certains cas. En effet, certaines thrombopénies syndromiques sont induites par des anomalies chromosomiques. Par exemple, le syndrome de Di George (ou syndrome vélocardiofacial) est caractérisé par une délétion 22q11.

Les techniques de biologie moléculaire permettent une meilleure compréhension de ces pathologies rares. Il est aujourd'hui possible de rechercher en screening les mutations de nombreuses thrombopénies constitutionnelles. (Tableau I).

**Tableau I. Classification des principales thrombopénies et thrombopathies constitutionnelles**

Thrombopénies non syndromiques			
MACROPLAQUETTES			
	Transmission	Gène	Localisation
Syndrome de Bernard-Soulier	Récessive	GPIIb $\alpha$ , GPIIb $\beta$ , GPIX	17p13, 22q11, 3q21
Anomalie de May-Hegglin	Dominante	MYH9	22q12-13
Syndrome des plaquettes grises	Récessive	NBEAL2	3p21.1
Thrombopénie liée à l'X avec Thalassémie	Liée à l'X	GATA1	Xp11.23
Pseudo-maladie de Von Willebrand (type plaquettaire)	Dominante	GPIIb $\alpha$	17p13
NORMOPLAQUETTES			
Amégacaryocytose congénitale	Récessive	c-MPL	1p34
Thrombopénie familiale liée au chromosome 10	Dominante	ANKRD26	10p2
MICROPLAQUETTES			
Thrombopénie liée à l'X	Liée à l'X	WAS	Xp11.23-p11.22
Thrombopénies syndromiques			
Syndrome de Wiskott-Aldrich	Liée à l'X	WAS	Xp11.23-p11.22
Syndrome MYH9	Dominante	MYH9	22q12-13
Syndrome plaquettaire familial avec prédisposition aux leucémies	Dominante	RUNX1	21q22-12
Syndrome TAR	Récessive	RBM8A	1q21.1
Amégacaryocytose avec synostose radio-cubitale	Dominante	HOXA11	7q15-14
Syndrome IVIC (oculo-oto-radial)	Dominante	SALL4	20q13
Syndrome de Di George (vélocardiofacial)	Dominante	GPIIb $\beta$	22q11
Thrombopathies sans thrombopénie			
Thrombasthénie de Glanzmann	Récessive	ITGA2B, ITGB3	17q21.31, 17q21.32
Maladie du pool vide plaquettaire	Dominante	Inconnu	Inconnu
Déficit en P2Y12	Récessive	P2RY12	3q25.1
Syndrome de Scott	Récessive	ABCA1	9q31.1

## DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL

Il est classique de distinguer ces pathologies en fonction de leur caractère syndromique ou non syndromique, de la présence d'une thrombopathie sans thrombopénie, mais également en fonction de la taille des plaquettes: macrothrombopénies, microthrombopénies et thrombopénies avec plaquettes de taille normale (**Tableau 1**) (2-4). Une discussion plus détaillée, relevant, à vrai dire, du spécialiste, sera élaborée dans un prochain article. Y seront présentés des algorithmes diagnostiques précis des différentes thrombopénies et thrombopathies constitutionnelles, avec leurs descriptions cliniques respectives (5).

## CONCLUSION

Les thrombopénies et thrombopathies constitutionnelles constituent un ensemble vaste de pathologies extrêmement rares et probablement sous-diagnostiquées. Devant une thrombopénie chez l'enfant, il conviendra d'envisager une origine constitutionnelle lorsque le diagnostic de PTI est peu probable (thrombopénie chronique résistante aux IVIG et aux corticoïdes). Le diagnostic définitif de ces anomalies est souvent très complexe et nécessite des compétences souvent réservées à des laboratoires spécialisés. De ce fait, le diagnostic précoce est parfois omis et leur découverte peut se faire à l'âge adulte. Un diagnostic précoce est crucial lorsque l'on considère les complications à long terme que certaines de ces pathologies peuvent entraîner (syndrome plaquettaire familial avec prédisposition aux leucémies myéloïdes aiguës par exemple). Bien que la caractérisation précise et la prise en charge de ce type de pathologie soient du ressort du spécialiste, une anamnèse complète (antécédents personnels et familiaux, scores hémorragiques), un examen clinique systématique et des tests de laboratoire simples (hémogramme avec numération des plaquettes, examen microscopique du frottis sanguin, temps d'occlusion plaquettaire) pourront abou-

tir à une suspicion clinique de thrombopénie/thrombopathie constitutionnelle. Le recours à des techniques diagnostiques spécifiques sera nécessaire afin de préciser le diagnostic permettant ensuite l'instauration d'une prise en charge et d'un suivi plus adaptés, mais également la surveillance et la prévention de complications touchant d'autres organes.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Elbatarny M, Mollah S, Grabell J et al.— Normal range of bleeding scores for the ISTH-BAT: adult and pediatric data from the merging project. *Haemophilia*, 2014, **20**, 831-835.
2. Gresele P, Harrison P, Gachet C, et al.— Diagnosis of inherited platelet function disorders: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*, 2015, **13**, 314-322.
3. Balduini CL, Cattaneo M, Fabris F, et al.— Inherited thrombocytopenias: a proposed diagnostic algorithm from the Italian Gruppo di Studio delle Piastrine. *Haematologica*, 2003, **88**, 582-592.
4. Balduini CL, Iolascon A, Savoia A.— Inherited thrombocytopenias: from genes to therapy. *Haematologica*, 2002, **87**, 860-880.
5. Harkati R, Péters P, Gothot A, et al.— Diagnostic différentiel des thrombopénies et thrombopathies constitutionnelles : présentations cliniques et algorithmes décisionnels. *Rev Med Liege*, 2019, **74**, sous presse.

Les demandes de tirés à part doivent être adressées au Dr R. Harkati, Service de Biologie Clinique, Clinique Saint-Pierre, Ottignies Louvain-la-Neuve, Belgique.  
Email : rharkati@chuliege.be