

Thomas P. Lecompte¹

Thrombopénies constitutionnelles : enjeux et moyens du diagnostic

Les thrombopénies constitutionnelles (TC) sont considérées comme très rares (peut-être quelques centaines de cas en Suisse), et elles sont certainement beaucoup plus rares que les formes acquises. Il est certain aussi qu'elles sont sous-diagnostiquées. Les rapports d'expérience clinique continuent d'indiquer des retards diagnostiques avec des explorations inutiles, parfois répétées, souvent coûteuses, et des traitements inappropriés.

L'objectif est donc de savoir évoquer une TC au moment opportun dans le diagnostic différentiel d'une thrombopénie vraie (sans amas – sans thrombo(cyto) agglutination liée à l'anticoagulant et/ou la température), qui comporte cependant déjà une très longue liste de causes possibles et dont les moyens du diagnostic restent modestes pour les thrombopénies sans atteinte médullaire manifeste (et alors la thrombopénie est rarement isolée).

Les TC (ou inherited thrombocytopenias) sont dues dans la majorité des cas à un défaut de production (mécanisme central). Ce mécanisme central peut être prouvé par étude de la durée de vie des plaquettes autologues marquées par un isotope radioactif [Najean et Lecompte 1990]. Toutefois ce défaut de production ne s'accompagne que rarement d'anomalies quantitatives et/ou qualitatives des mégacaryocytes détectables par l'étude morphologique médullaire. Il reste vrai qu'une hyperplasie mégacaryocytaire est en faveur d'un mécanisme périphérique, donc en défaveur d'une TC.

Une vingtaine d'entités sont aujourd'hui bien identifiées. Les anomalies génomiques sont bien répertoriées et l'étude génomique est devenue un élément clé du diagnostic; bien que nous soyons au seuil du séquençage à haut débit de l'ADN facile et relativement peu coûteux en médecine de laboratoire, il y a des arguments pour préférer une étude génomique ciblée en fonction de caractéristiques phénotypiques. Toutes les TC ne sont pas classées. Les formes les plus anciennement reconnues (au début du siècle dernier!) sont aussi

celles qui sont les plus parlantes sur le plan clinique, avec numération plaquettaire très basse et/ou tendance hémorragique marquée et/ou présence de signes facilement détectables d'autres anomalies (formes dites syndromiques). Nous pouvons ainsi citer le syndrome de Wiskott-Aldrich (avec immunodéficience); l'anomalie de May-Hegglin (avec des particularités morphologiques des granuleux: inclusions cytoplasmiques basophiles; et atteinte éventuelle d'organes); le syndrome de Bernard-Soulier (avec le déficit de la fonction plaquettaire d'adhérence au sous-endothélium) ...

Il est apparu que certaines formes sont beaucoup moins bruyantes et alors la thrombopénie est fréquemment détectée à l'âge adulte [Balduini 2013]. Ainsi une thrombopénie notée tardivement dans la vie (et souvent fortuitement, avant une intervention ...) peut être une TC.

Quel est le seuil inférieur de la numération plaquettaire ?

Traditionnellement le seuil inférieur, qui a été moins sujet à discussion que le seuil supérieur, est placé à 150 G/L. Toutefois les experts du domaine ont récemment abaissé ce seuil à 100 G/L pour parler de possible thrombopénie isolée immunologique (ou ITP pour immune thrombocytopenia). Cela tient au fait que de récentes études de population [par exemple Biino 2012] ont confirmé ce qui avait déjà été évoqué dans les années 70 du siècle passé à savoir que des populations du Sud de l'Europe avaient tendance à avoir des numérations plaquettaires plus basses que les autres [von Behrens 1975]. Il existe dans les populations normales une relation inverse bien établie entre

la numération et le volume plaquettaire. Des déterminants génétiques (qui doivent être considérés comme des polymorphismes non pathogènes) ont été identifiés.

Il est aussi possible de considérer qu'en l'absence d'élément d'orientation le diagnostic de TC ne doit être évoqué que si la numération plaquettaire est inférieure à ce seuil de 100 G/L, mais pour certaines entités bien définies, il n'est pas rare que plusieurs voire tous les membres de la famille aient une numération (assez stable) entre 100 et 150 G/L.

Le classement des TC

Les TC sont répertoriées selon le gène en cause et ont un numéro attribué selon la base OMIM (online mendelian inheritance in man) [Balduini 2003; Balduini 2013].

Les principaux éléments du classement sont:

- la présence d'anomalies autres que plaquettaires, qui sont souvent facilement détectables (formes dites syndromiques);
- le mode de transmission (tous possibles);
- la morphologie plaquettaire (à commencer par leur volume et leur taille).

Sur la base de ces éléments (permettant d'établir un phénotype), une hypothèse, ou quelques hypothèses peuvent être formulées, et un diagnostic génomique ciblé peut être proposé.

Schématiquement il est possible de distinguer les formes diagnostiquées par les pédiatres des formes plus latentes, non rarement diagnostiquées à l'âge adulte. Dans les formes qui sont diagnostiquées souvent à un jeune voire très jeune âge, un ou plusieurs des éléments suivants sont présents: la numération

¹ Prof Dr méd. Thomas P. Lecompte, Médecin-chef de service, hématologie, Hôpitaux Universitaires de Genève CH

plaquettaire est très basse; il existe une tendance hémorragique nette; il existe manifestement un syndrome (retard mental, anomalies osseuses, immunologiques, cardiaques ...); une évolution vers une pancytopénie survient assez rapidement par insuffisance médullaire globale. Ces formes sont souvent récessives.

Des formes sporadiques (mutations de novo) existent, et des délétions étendues sont possibles, alors souvent sporadiques (non familiales) et syndromiques (plusieurs gènes emportés et impossibilité d'avoir une descendance). Les risques de saignement, d'évolution hématologique (insuffisance médullaire globale ou hémopathie maligne), et d'atteinte d'organes autres que la moelle hématopoïétique (formes syndromiques), peuvent être mieux appréciés quand un diagnostic précis est réalisé, y compris sur le plan génomique. Quelques exemples:

- risque hémorragique des anomalies de l'axe GPIb – Willebrand, qui n'est pas en simple relation avec le degré de la thrombopénie du fait des anomalies de cet axe
- risque d'hémopathie maligne (le plus souvent myéloïde) au cours des entités suivantes: familial platelet disorder with predisposition to acute

myelogenous leukemia (FPD/AML) et ANKRD26-related thrombocytopenia – risque d'atteinte auditive, oculaire ou rénale lorsqu'il existe une maladie dite liée au gène MYH9 (ou «MYH9-related disease»).

Les 2 entités à risque d'hémopathie maligne ont un mode de transmission autosomal et dominant; la numération plaquettaire est modérément abaissée et le volume plaquettaire est normal.

Enjeu du diagnostic correct de TC

Un diagnostic correct est important car il met fin à une possible errance diagnostique et à d'éventuelles thérapeutiques inappropriées. Ces thérapeutiques inappropriées sont souvent celles d'un «ITP»: corticothérapie, immunoglobulines IV, splénectomie, voire immunosuppression!

En outre et comme mentionné dans la partie consacrée au classement des TC, il convient d'évaluer les risques de saignement (très variable d'une entité à l'autre), d'évolution hématologique, et d'atteinte d'autres organes que la moelle hématopoïétique.

Caractérisation du phénotype morphologique plaquettaire

Le phénotype morphologique plaquettaire est établi par les appareils pour

Erworbene Thrombozytopenien: Methoden und Zweck der Diagnostik

Erworbene Thrombozytopenien sind sehr seltene Erkrankungen, sollten jedoch in gewissen Fällen diagnostisch erwogen werden. Etwa zwanzig Symptomenkomplexe sind bekannt. Oft lässt sich eine Genomdiagnose stellen. Es gilt einerseits zu vermeiden, dass verspätete Diagnosen zu überflüssigen Untersuchungen und ungeeigneten Therapien führen, und andererseits zu bestimmen, inwiefern Blutungen, Schädigungen anderer Organe als das blutbildende Knochenmark (syndromale Formen) sowie hämatologische Veränderungen (Panmyelopathie oder hämatologische Neoplasie) ein Risiko darstellen. In diesem Beitrag werden – mit besonderem Augenmerk auf den morphologischen Thrombozytenphänotyp – Orientierungshilfen vorgestellt: Daten der Blutbildmessgeräte und mikroskopische Beurteilung eines gefärbten Blutausstriches. Die Diagnose einer (in erster Linie peripheren) Immunthrombozytopenie ist eher unwahrscheinlich wenn Volumen und Grösse deutlich von der Norm abweichen. Ausserdem kann der Thrombozytenphänotyp etwaige Genomanalysen lenken.

hémogramme et l'examen au microscope d'un frottis de sang coloré [Latger-Cannard 2013].

Les appareils pour hémogramme fournissent un graphique de répartition des éléments considérés comme plaquettaires en fonction de leur volume (selon une méthode impédance ou une méthode optique) et proposent le paramètre volume plaquettaire moyen. La détermination de ce paramètre est assez délicate, dépendant non seulement de la méthode/de l'appareil (avec différences systématiques entre eux – voir figure 1), mais aussi des conditions pré-analytiques (anticoagulant, temps, température) [Salignac 2013, Latger-Cannard 2013, O'Malley 1996].

L'observation attentive au microscope des plaquettes du frottis sanguin coloré apporte des renseignements sur leur taille, leur structure, et les granules alpha. La présence éventuelle d'anomalies associées des autres lignées (hématies et leucocytes) peut également apporter des éléments utiles à la caractérisation des TC.

Les plaquettes proviennent de la fragmentation du cytoplasme des mégacaryocytes. Les plaquettes sont des cellules sanguines anucléées et de forme discoïde. Leur taille est de l'ordre de 2 à 3 µm, mais elle est très hétérogène (d'où le terme fréquemment employé de «anisocytose physiologique»). Les plaquettes comprennent trois types

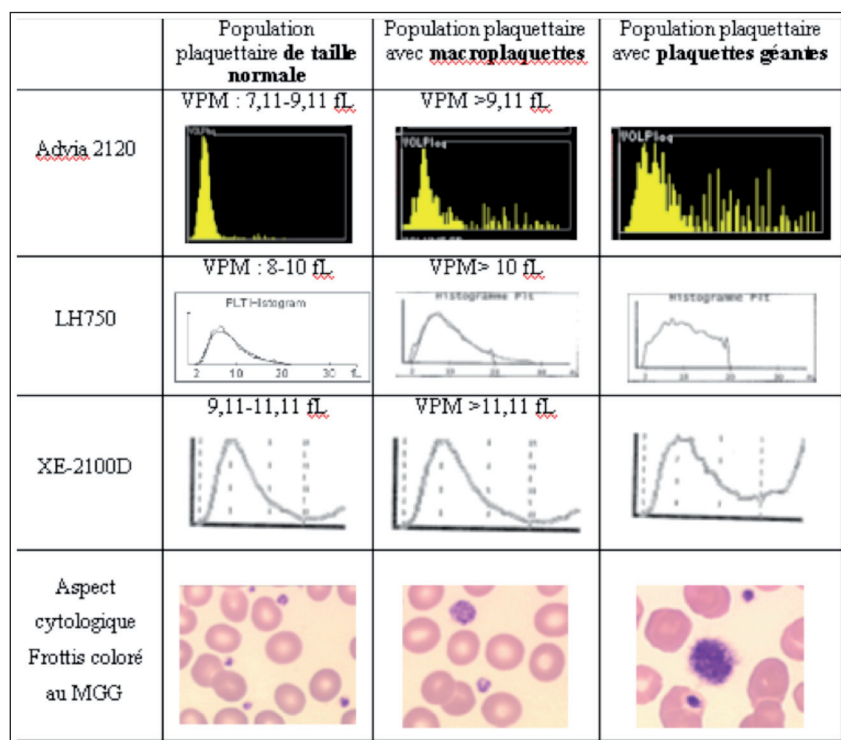
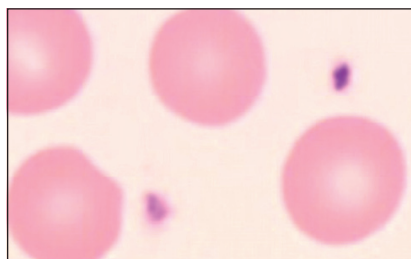


Figure 1 : Volumes plaquettaires avec 3 appareils pour hémogramme – sang anticoagulé avec de l'EDTA (Advia Siemens, LH750 Coulter, XE-2100D Sysmex)

de granules: les granules alpha (contenant de nombreuses protéines), les granules denses (renfermant notamment des nucléotides adényliques et de la sérotonine), et les lysosomes. Seuls les granules alpha sont colorés par les colorants usuellement utilisés pour l'examen microscopique des frottis de sang. La combinaison des données de l'appareil et des observations au microscope permet de distinguer 3 situations: microcytose plaquettaire; normocytose plaquettaire; et enfin plaquettes de volume et taille augmentées [Latger-Canard 2012]. Il y a en général accord entre l'appréciation du volume par les appareils et celle de la taille par l'œil humain qui observe au microscope un frottis, éventuellement assisté d'outils de morphométrie. Dans le dernier cas de figure, celui d'un volume augmenté, il est important de tenter de reconnaître les plaquettes géantes, car les entités avec gigantisme vrai sont limitées à 2: syndrome de Bernard Soulier classique appelé souvent aujourd'hui bi-allélique, et le groupe MYH9-related disease. En impédance les plaquettes géantes sont repérées dans la zone des érythroblastes et des amas plaquettaires, et en optique selon la lumière incidente recueillie à 2 angles (un pour la taille, l'autre pour la structure), ou en optique toujours selon la taille (lumière incidente recueillie à l'angle adéquat) et lumière émise par fluorescence d'un marqueur des plaquettes [Salignac 2013]. Le comptage par impédance n'inclut pas les plaquettes géantes (ce qui s'accompagne le plus souvent d'une alarme et la répartition des événements entre 2 et 20 ou 30 fL est alors manifestement très anormale), tandis que le comptage par une méthode optique tente de le faire; pour les appareils Siemens un volume plaquettaire moyen est proposé et il est en général très élevé [Salignac 2013]. Les signes suivants sont logiquement



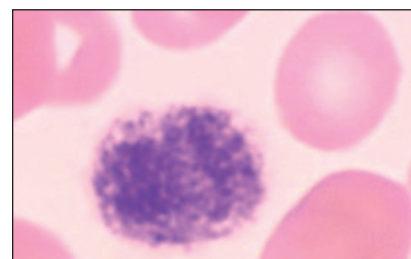
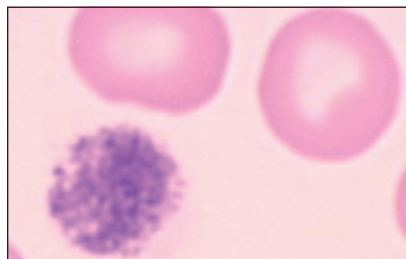
Syndrome de Wiskott Aldrich: très petite taille des plaquettes.

en faveur d'un gigantisme plaquettaire significatif: discordance entre la numération par impédance d'une part, et celle obtenue par une méthode optique (lorsque 2 appareils avec moyen de mesure différents sont disponibles, ou avec un appareil pouvant réaliser les 2 types de comptage) d'autre part. En outre il existe un désaccord souvent net entre la numération par impédance et l'estimation d'après l'examen au microscope du frottis (rapport plaquettes/globules rouges). Les plaquettes géantes sont plus grandes qu'un globule rouge normal, à savoir 8 μm ; elles représentent normalement moins de 1% des plaquettes circulantes [Balduini 2003]. Une numération plaquettaire probablement très juste peut être obtenue en cytométrie en flux avec un anticorps spécifique des plaquettes qui est couplé à un marqueur fluorescent.

Les macroplaquettes (non géantes donc) sont généralement prises en compte par les appareils utilisant l'impédance, quand un lissage selon le modèle de répartition log-normal est effectué et se révèle possible; dans ce cas une extrapolation de la courbe de répartition est effectuée au-delà de la stricte zone de mesure attribuée aux événements présumés plaquettaires.

Éléments d'orientation en faveur d'une TC (voir tableau)

En complément aux indications du tableau, il convient de rappeler ici quelques éléments du diagnostic différentiel des thrombopénies.



Syndrome de Bernard Soulier (bi-allélique): plaquettes géantes fréquentes (plus grandes qu'un globule rouge).

Tableau: Éléments d'orientation en faveur d'une thrombopénie constitutionnelle

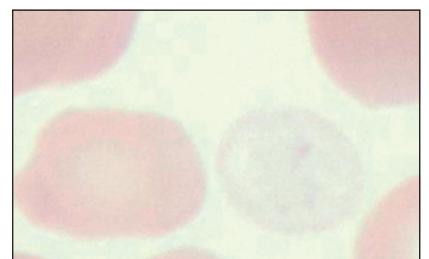
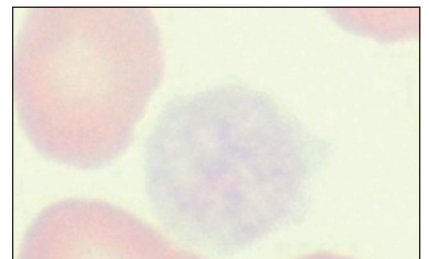
- La numération plaquettaire n'a jamais été normale
- La thrombopénie est modérée
- Le volume (appareil pour numération) et la taille (frottis*) plaquettaires sont franchement anormaux
- Le contenu plaquettaire en granules alpha est anormal (frottis*)
- Il existe des inclusions cytoplasmiques basophiles dans les granuleux (frottis*)
- Il existe des particularités morphologiques des globules rouges (**) (frottis*)
- Il existe des antécédents familiaux (réaliser un hémogramme avec frottis et histogrammes même en l'absence de tendance hémorragique)
- Il existe des signes évocateurs d'un syndrome constitutionnel
- La durée de vie des plaquettes est normale
- Les traitements usuels d'une thrombopénie isolée immunologique sont inefficaces

(*) Frottis: examen au microscope d'un frottis de sang coloré

(**) Il existe en effet une forme de TC avec stomatocytose érythrocytaire (sitostérolémie - STSL; autosomale récessive), et une autre avec dysérythropoïèse et phénotype thalassémique (GATA1-related disease - XLTT; liée au chromosome X)

En cas de pathologie médullaire, qui est le plus souvent acquise, la thrombopénie est exceptionnellement isolée.

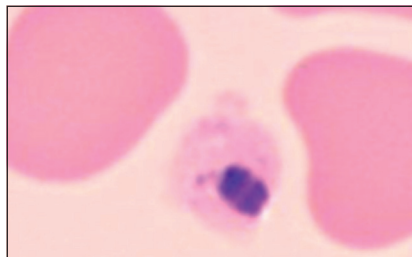
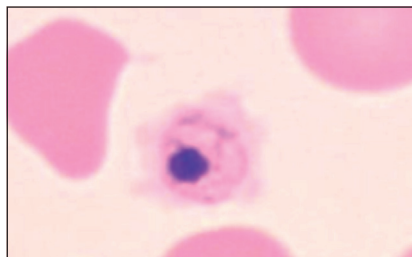
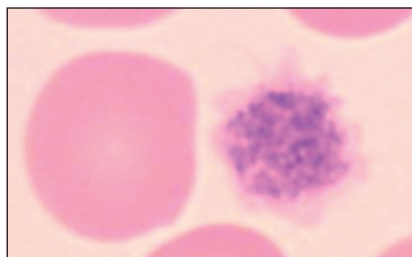
Les moyens du diagnostic pour les autres thrombopénies restent modestes, pour les raisons suivantes succinctement résumées:



Plaquettes grises constitutionnelles (gray platelet syndrome): taille augmentée des plaquettes et absence de granule alpha.

- il est difficile d'apprécier la richesse médullaire en mégacaryocytes;
- les indicateurs périphériques de renouvellement (fraction de plaquettes jeunes, etc.) sont insuffisamment validés et peut-être faiblement discriminatifs;
- l'étude de la durée de vie des plaquettes radiomarquées est assez délicate;
- la détection des anticorps dirigés contre les plaquettes reste assez problématique.

Lorsque le volume et la taille sont franchement anormaux, le diagnostic de thrombopénie de mécanisme immunologique, essentiellement périphérique, devient improbable [Noris 2013]. Lorsque le mécanisme de la thrombopénie est (principalement ou exclusivement) périphérique, le volume plaquettaire moyen a tendance à augmenter (modérément), car il semble bien que les plaquettes jeunes produites en ces circonstances soient plus volumineuses. En guise de conclusion, il est important d'avoir dans sa check-list des diagnostics différentiels des thrombopénies le chapitre TC, même si ces pathologies sont rares et complexes, multiples ..., et avoir l'esprit en éveil sur la base des éléments rassemblés dans le tableau. Si le diagnostic est évoqué, l'étude d'autres membres de la famille doit être soigneusement réalisée et le recours à un centre expérimenté dans le thème est logique.



Syndrome de Jacobsen: taille augmentée des plaquettes et certaines plaquettes d'aspect Paris-Trousseau avec granule alpha unique et géant.

ments rassemblés dans le tableau. Si le diagnostic est évoqué, l'étude d'autres membres de la famille doit être soigneusement réalisée et le recours à un centre expérimenté dans le thème est logique.

Correspondance:
ThomasPierre.Lecompte@hcuge.ch

Remerciements à Madame la Dre Véronique Latger-Cannard, CHU de Nancy, France, notamment pour l'iconographie.

Bibliographie

- 1 von Behrens WE. Mediterranean macrothrombocytopenia. Blood 1975, 46: 199–208.
- 2 Najean Y, Lecompte T. Genetic thrombocytopenia with autosomal dominant transmission: a review of 54 cases. Br J Haematol 1990, 74: 203–8
- 3 O'Malley T, Ludlam CA, Fox KA, Elton RA. Measurement of platelet volume using a variety of different anticoagulant and antiplatelet mixtures. Blood Coagul Fibrinol 1996, 7: 431–6
- 4 Balduini CL, Cattaneo M, Fabris F, Gesele P, Iolascon A, Pulcinelli FM, Savoia A, on behalf of the Italian «Gruppo di Studio delle Piastrine». Inherited thrombocytopenias: a proposed diagnostic algorithm from the Italian Gruppo di Studio delle Piastrine. Platelets 2003, 88: 582–592
- 5 Latger-Cannard V, Hoarau M, Salignac S, Baumgart D, Nurden P, Lecompte T. Mean platelet volume: comparison of three analysers – towards standardisation of platelet morphological phenotype. Int J Lab Hematol 2012, 34: 300–10
- 6 Biino G, Gasparini P, D'Adamo P, Ciullo M, Nuttle T, Toniolo D, Sala C, Minelli C, Gögele M, Balduini CL. Influence of age, sex and ethnicity on platelet count in five Italian geographic isolates: mild thrombocytopenia may be physiological. Br J Haematol 2012, 157: 384–7
- 7 Balduini CL, Savoia A, Seri M. Inherited thrombocytopenias frequently diagnosed in adults. J Thromb Haemost 2013, 11: 1006–19
- 8 Noris P, Klersy C, Gesele P, Giona F, Giordano P, Minuz P, Loffredo G, Pecci A, Melazzini F, Civaschi E, Mezzasoma A, Piedimonte M, Semeraro F, Veneri D, Menna F, Ciardelli L, Balduini CL; Italian Gruppo di Studio delle Piastrine. Platelet size for distinguishing between inherited thrombocytopenias and immune thrombocytopenia: a multicentric, real life study. Br J Haematol 2013, 162: 112–9
- 9 Salignac S, Latger-Cannard V, Schlegel N, Lecompte T. Platelet counting. Methods Mol Biol 2013, 992: 193–205
- 10 Latger-Cannard V, Fenneteau O, Salignac S, Lecompte T, Schlegel N. Platelet morphology analysis. Methods Mol Biol 2013, 992: 207–25

Kantonsspital Aarau



Das Kantonsspital Aarau ist eines der grossen Zentrumsspitäler der Schweiz. In über 30 Behandlungszentren und Diagnoseinstituten erbringen die Mitarbeitenden täglich Topleistungen. Als moderner Arbeitgeber bietet das KSA viele Vorteile: Anspruchsvolle und vielseitige Tätigkeiten, fortschrittliche Arbeitsbedingungen, ein angenehmes Umfeld, umfassende Fort- und Weiterbildungen sowie die zentrale Lage (7 Min. vom Bahnhof Aarau).

Das Zentrum für Labormedizin sucht per sofort oder nach Vereinbarung eine/n

Leiter / Leiterin Laborservices (Leitende/r BMA HFP oder Pflegefachfrau /-fachmann mit Führungserfahrung) 100%

Ihre Aufgaben

Die Abteilung Laborservices beinhaltet die Ambulatorien mit den Standorten Zentrum für Labormedizin Haus 1, Kinderklinik Haus 9 und Abstinenzkontrollen KSA am Bahnhof sowie die interne und externe Probenannahme, Kurier- und Kundendienst. Sie führen ein Team von BMA, Pflegefachfrauen, MPA, Arztsekretärinnen sowie Kurieren und arbeiten aktiv in den verschiedenen Bereichen mit. Sie tragen die organisatorische Verantwortung im zuständigen Bereich und nehmen an Führungssitzungen teil. Es besteht eine enge Zusammenarbeit mit dem Labormanagement, den Leitenden BMA der Hämatologie und der Klinischen Chemie sowie der Patientenadministration. Sie pflegen aktiven Kontakt mit unseren internen und externen Kunden. In der Regel leisten Sie keine Nacht- und Sonntagsdienste.

Ihr Profil

Sie bringen eine Ausbildung als biomedizinische Analytiker/in HFP oder Pflegefachfrau / -fachmann mit. Zusätzlich ist eine absolvierte höhere Fach- und Führungsausbildung oder ein Equivalenzausweis bzw. eine Kaderausbildung wünschenswert. Zudem verfügen Sie über hohe soziale Kompetenz, erhebliches Interesse an Kundendienst, Präanalytik, Qualitätssicherung und Weiterentwicklung des Labors. Sie sind eine kundenfreundliche, selbstständig arbeitende, belastbare, mitdenkende und motivierte Persönlichkeit.

Ihre Zukunft

Ein selbständiges Arbeiten in einem motivierten, innovativen Team mit modernster Infrastruktur. Ihre Erfahrung wird ergänzt durch regelmässige interne und externe Fortbildung. Als zukunftsorientierte Arbeitgeberin bieten wir Ihnen viele Vorteile, unter anderem zwei Personalrestaurants.

Ihre Ansprechpartner

Für weitere Informationen steht Ihnen Herr Prof. A.R. Huber, Chefarzt, Zentrum für Labormedizin, Tel. 062 838 53 02, jederzeit gerne zur Verfügung. Ihre schriftliche Bewerbung senden Sie bitte mit den üblichen Unterlagen an die Kantonsspital Aarau AG, Frau C. Stutz, Bereichspersonalleiterin, Personaldienst, 5001 Aarau.