

Diagnostic différentiel entre

Purpura Thrombopénique Immunologique et

Thrombopénie Constitutionnelle

Vision de l'hémo-biologiste

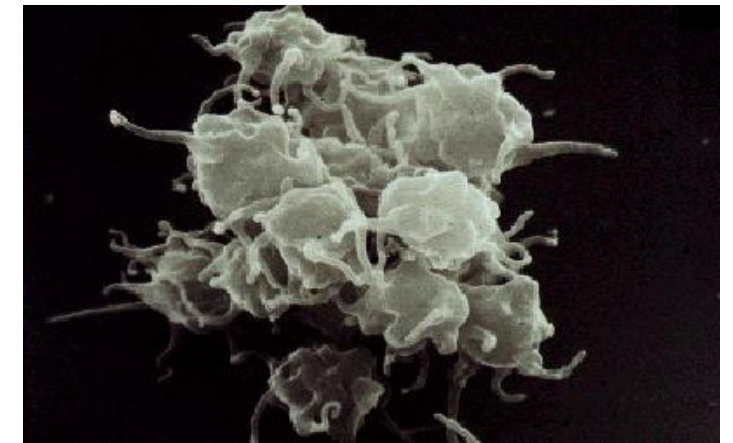
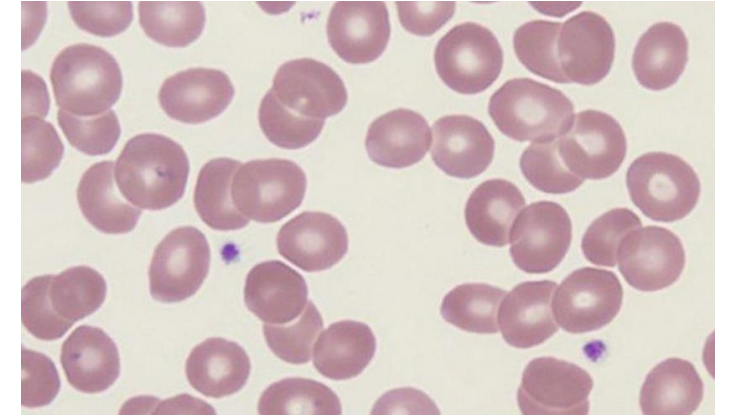


Pr. Hélène Lapillonne
Service d'Hématologie biologique
Hôpital Trousseau Paris

Journée annuelle du CRPP
Lundi 17 mars 2025

Plaquettes sanguines et Thrombopénie

- Cellules anucléées, Ø 2-5 µm, granuleuses
- Production médullaire (+ pool pulmonaire), régulation par TPO
- 7-10 jours
- 150-450 G/L
- Rôles :
 - Hémostase primaire et support de la coagulation
 - Inflammation et réponse immunitaire
 - Plaquettes et cancer
- Interrogation diagnostique et thrombopénie
 - Excès de destruction – Périphérique
 - Pathologie auto ou allo-immune, médicaments, infections, consommation de plaquettes (SHU, CIVD)
 - Défaut de production – Centrale
 - Infiltration médullaire – leucémies / lymphomes
 - Aplasie médullaire
 - Syndrome myélodysplasique



Purpura Thrombopénique Immunologique

- Fréquent - 1,9 à 6,4 / 100 000 enfants / an
- Pathologie auto-immune acquise
- Thrombopénie isolée par un mécanisme prédominant de destruction périphérique
- Syndrome hémorragique le plus souvent limité
- Guérison dans la grande majorité des cas
- Souvent un diagnostic d'exclusion

Pathologie plaquettaire constitutionnelle

- Rare, prévalence difficile à évaluer (CRPP $\simeq$ 1/30 000)
- Contexte familial
- Quantitative/Qualitative/Mixte
- Spectre clinique hétérogène +++
 - +/- Syndrome hémorragique
 - +/- atteinte extra-hématologique
 - +/- atteinte hématologique

Les outils diagnostiques du biologiste

Numération Formule Sanguine

Nombre de plaquettes, Volume plaquettaire (VMP), Fraction immature plaquettaire (IPF) et Morphologie plaquettaire

Bilan d'hémostase et dosages plasmatiques

vWF Antigène et Activité - Dosage plasmatique de la TPO

Etudes fonctionnelles plaquettaires

Expression des glycoprotéines membranaires et sécrétion des granules par
Cytométrie en flux

Etude des fonctions plaquettaires – PFA et Agrégométrie

Bilan Immunitaire

* Immunologie

Anticorps anti-plaquettes, déficit immunitaire, pathologie auto-Immune

Microscopie Electronique

* Centralisée à Lyon

Etude morphologique des granules plaquettaires

Etude Génétique

Panel NGS ciblé, séquençage direct, WES, WGS

Numération Formule Sanguine

Nombre de plaquettes, Volume plaquettaire (VMP), Fraction immature plaquettaire (IPF) et Morphologie plaquettaire

Plaquettes < 150 G/l = Frottis sanguin (aspect quantitatif et aspect qualitatif)

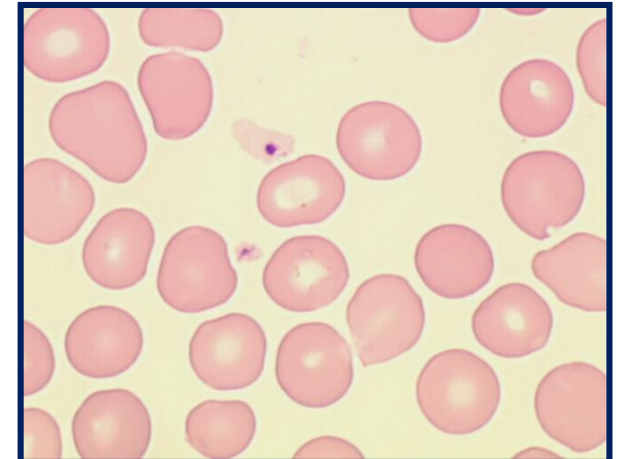
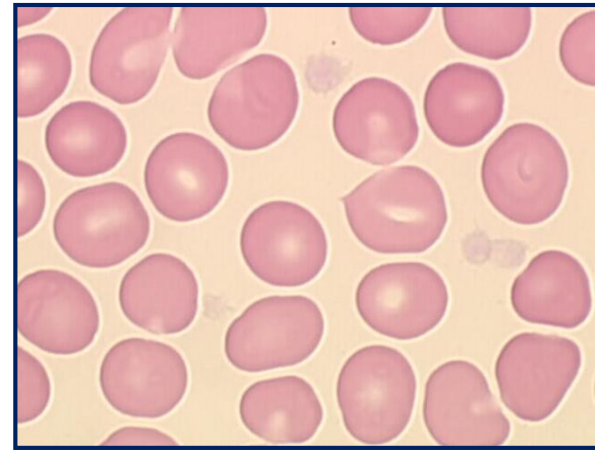
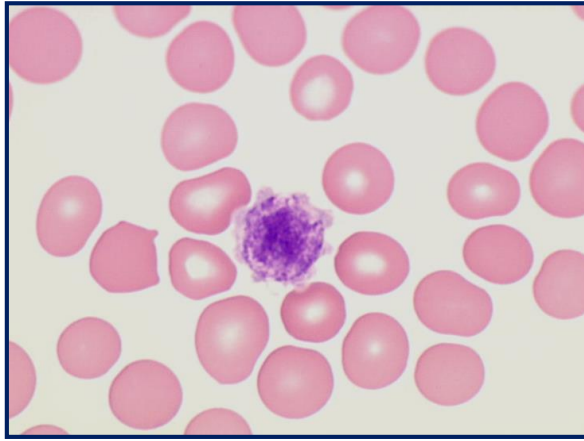
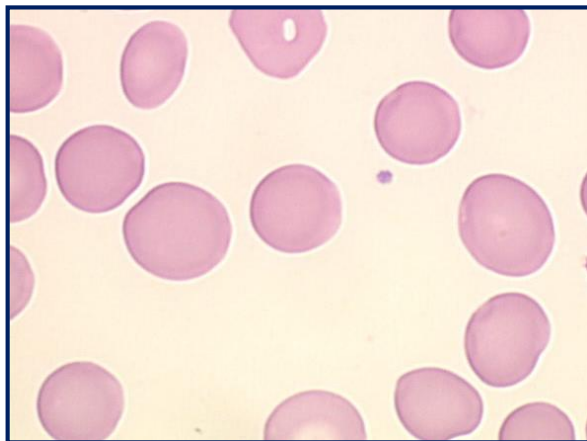
VMP permet de classer les thrombopénies

- VMP pas toujours rendu (plaquettes trop basses, % élevé de macroplaquettes)

IPF en % et en valeurs absolues

- Reflet de la génération de plaquettes
- Permet de distinguer les thrombopénies centrales / périphériques

Morphologie plaquettaire – Quantification des anomalies de taille et de structure



Numération Formule Sanguine

PTI versus Thrombopénies constitutionnelles

	PTI	Thrombopénie constitutionnelle
Taux de plaquettes	Médiane basse PTIa < PTIc Plq < 12 G/l*	Hétérogène Médiane moins basse que PTI
Volume plaquettaire moyen - VMP	Normal légèrement augmenté	Très Hétérogène
Fraction immature des plaquettes - IPF	Augmentée Variable dans le temps PTIa >PTIc	Très Variable Stable dans le temps
Morphologie plaquettaire	Quelques macroplaquettes Pas d'anomalie de structure	Très variable et homogène (micro à Anomalies spécifiques

* McDonnell et al, Ped Blood Cancer 2018.

Bilan d'hémostase et dosages plasmatiques

vWF Antigène et Activité - Dosage plasmatique de la TPO

Tout syndrome hémorragique = bilan d'hémostase

Ne pas oublier la maladie de Willebrand type 2B

Dosage plasmatique de la Thrombopoïétine - TPO

Test Elisa immuno-enzymatique

5 groupes de thrombopénies (n=54)

	Plaquettes (G/l)	TPO (pg/ml) IC95%
Periphérique	85 (9-295)	55 [22-83]
Centrale	77 (10-210)	190 [43-198]
Génétique	82 (21-188)	106 [64-157]
Willebrand Type 2B	62 (25-130)	23 [5-45]
Autres	105 (40-191)	50 [37-186]

TPO normale: 45+/-24,5pg/ml

Pas de différence significative sur le taux de plaquettes

TPO significativement très basse dans le Willebrand de type 2B, basse dans les causes périphériques, modérément élevée dans les causes génétiques et très élevée dans les causes centrales

d'après Thèse d'exercice Maya Amhis, 2019

Etudes fonctionnelles des plaquettes

Expression des glycoprotéines plaquettaires par Cytométrie en flux
Etude des fonctions plaquettaires – PFA et Agrégométrie

Taux de Plaquettes = facteur limitant

Si $\text{Plq} < 20 \text{ G/l}$ = pas d'exploration

Si $20 \leq \text{Plq} < 100 \text{ G/l}$ = uniquement CMF, pas de PFA ni d'agrégométrie

Si $\text{Plq} \geq 100 \text{ G/l}$ = CMF et agrégométrie possible si $\text{PRP} > 150 \text{ G/l}$

Agrégométrie et PFA indiqués pour étude de thrombopathie, moins de place pour l'étude des thrombopénies

Principe de l'étude des glycoprotéines plaquettaires

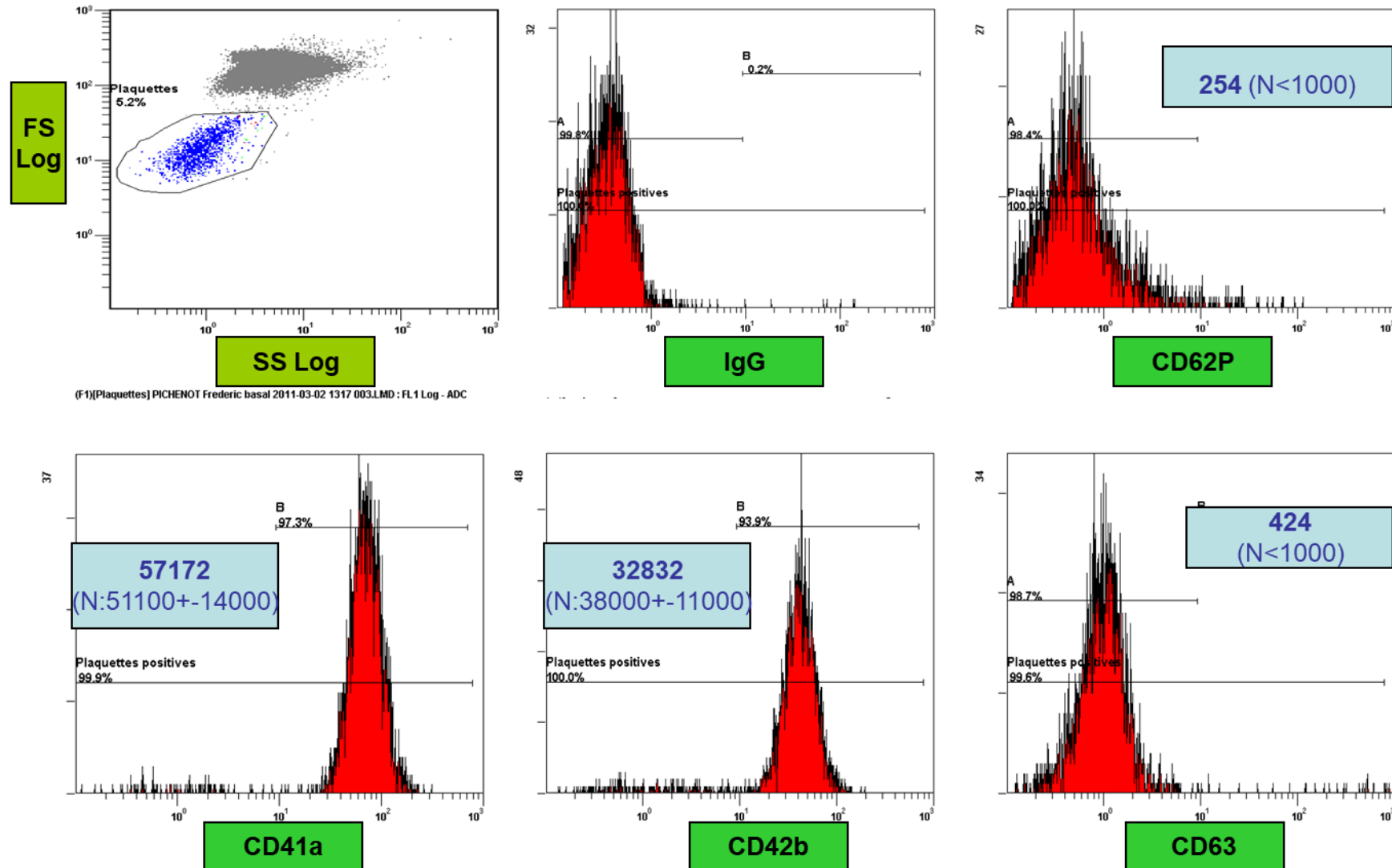
- Faible volume de sang (1ml), analyse sur sang total ou PRP
- Glycoprotéines membranaires – GPIb (CD42), GPIIb (CD41)
- Glycoprotéines granulaires – CD62P (granules alpha), CD63 (granules denses)
- Etude à l'état basal et après activation des plaquettes (Thrombine, ADP)

Résultats les plus souvent observés

- Macrocytose plaquettaire – Augmentation des GP à l'état basal et après activation
- Microcytose plaquettaire – Diminution des GP à l'état basal et après activation
- Déficit en GPIb à l'état basal et après activation – Bernard Soulier homo ou hétérozygote
- Déficit en GPIIb à l'état basal et après activation – Glanzmann homo ou hétérozygote
- Défaut de sécrétion des granules – Pool vide, plaquettes grises, Paris -TRS

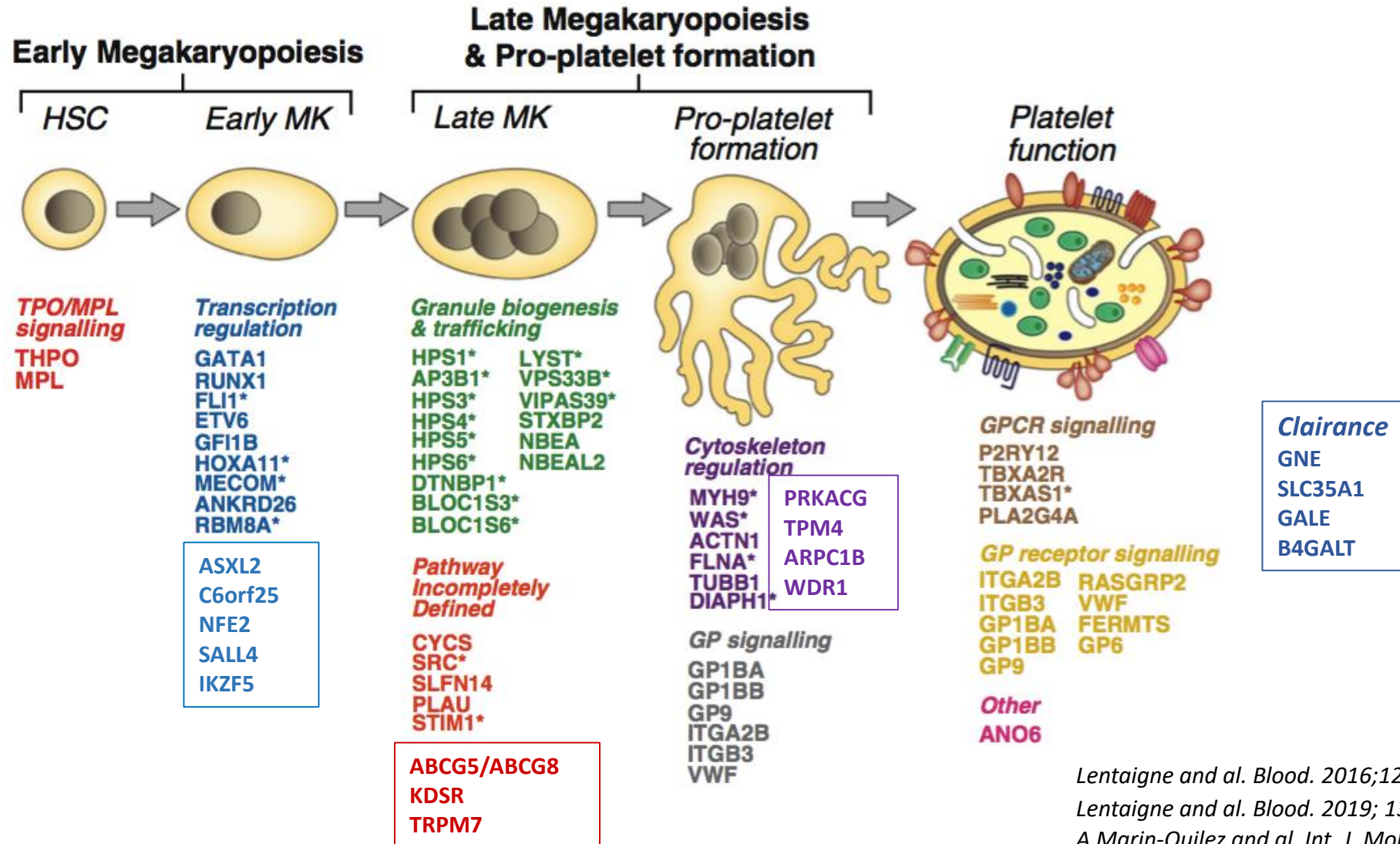
Expression des glycoprotéines plaquettaires par Cytométrie en flux

Patient normal – Etat basal



Etude Génétique

Panel NGS ciblé, séquençage direct, WES, WGS



Lentaigne and al. Blood. 2016;127(23):2814–23

Lentaigne and al. Blood. 2019; 134 (23): 2070–2081.

A Marin-Quilez and al. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24(6), 5109

Etude Génétique

Panel NGS ciblé, séquençage direct, WES, WGS

Séquençage direct monogénique quasi-abandonné – Etude familiale

Evolution et accessibilité des panels NGS ciblés – 61 gènes dans le panel actuel

Technique capture Roche Nibelgen, Analyse bioinformatique, Pipeline d'analyse actuel Moabi

Indications à discuter en RCP clinico-biologique

Consentement génétique indispensable

Résultats rendus sous 6 mois

Critères d'interprétation des variants identifiés selon les critères ACMG

- Variant de classe 5 – Pathogenic
- Variant de classe 4 – Likely Pathogenic
- Variant de classe 3 – Uncertain Significance
- Variant de classe 2 – Likely Benign
- Variant de classe 1 – Benign

Les variants de classe 4 et 5 sont rendus au prescripteur, les variants de classe 3 sont discutés au regard de l'ensemble du bilan.

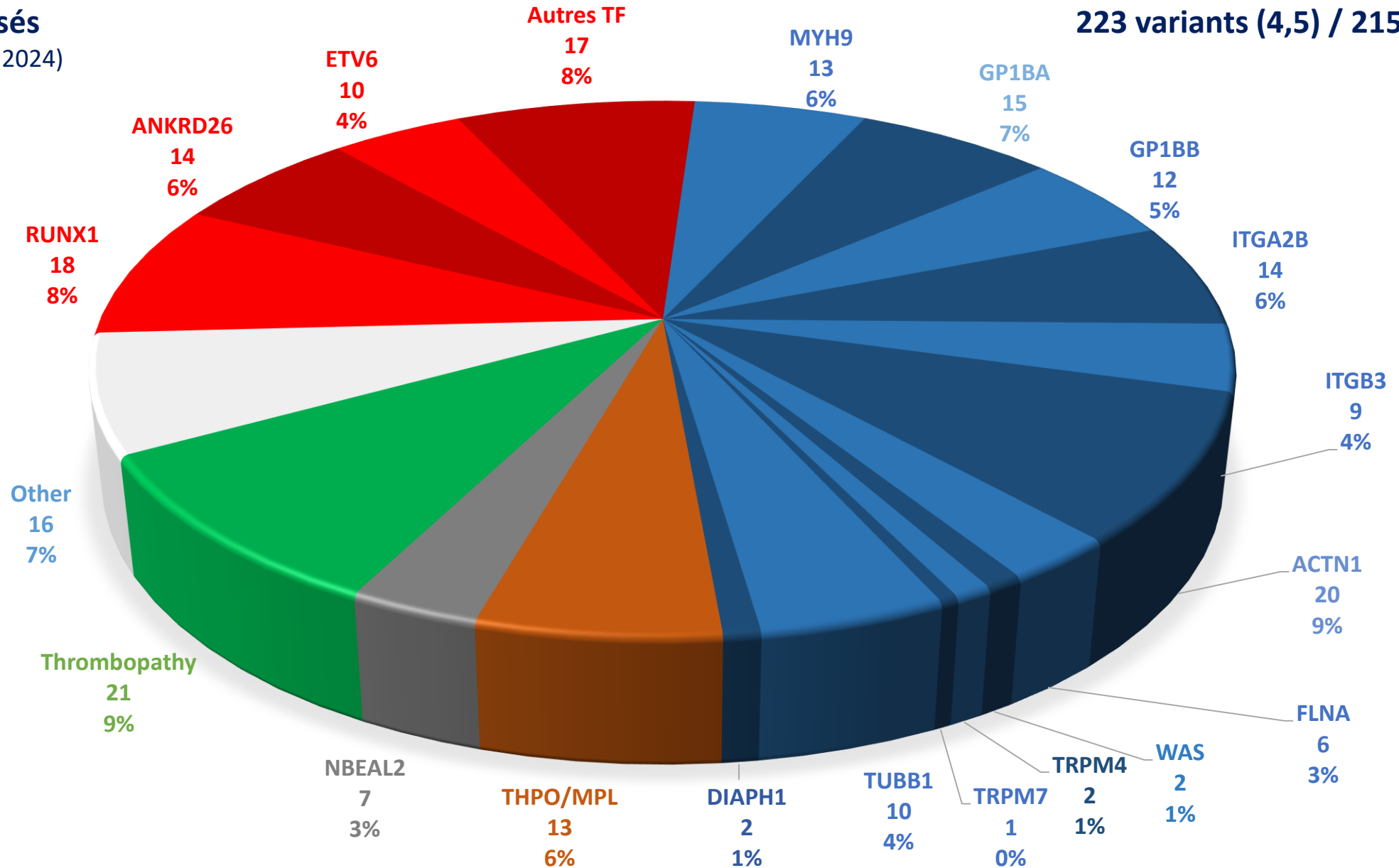
Bilan Panel NGS TRS

682 NGS réalisés

(janvier 2018-juin 2024)

223 variants (4,5) / 215 patients

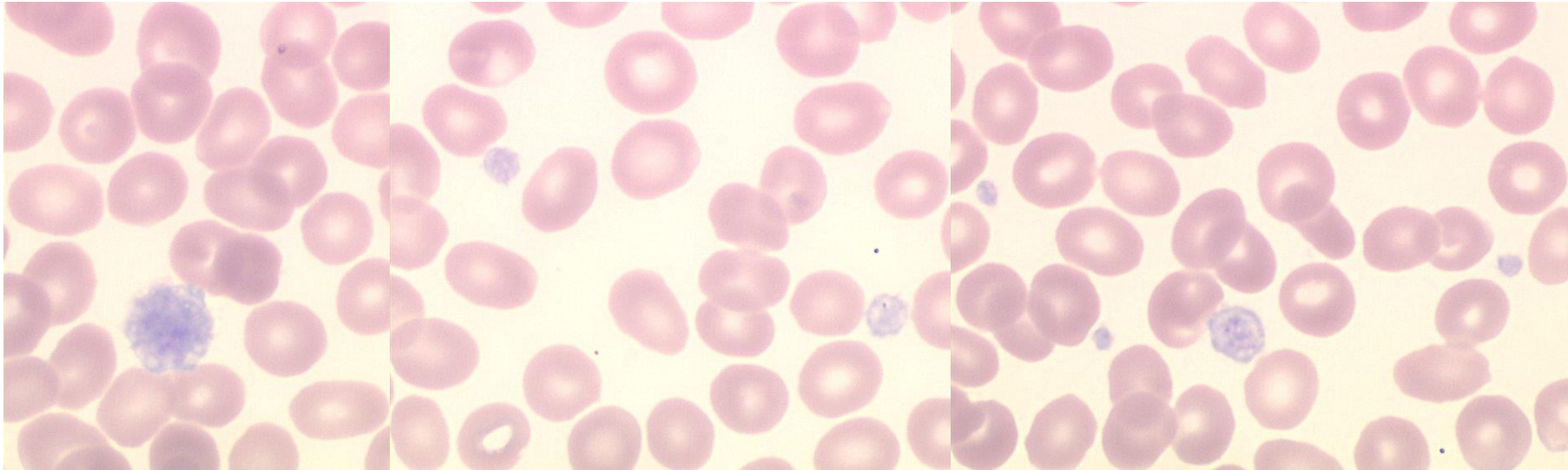
31,5%



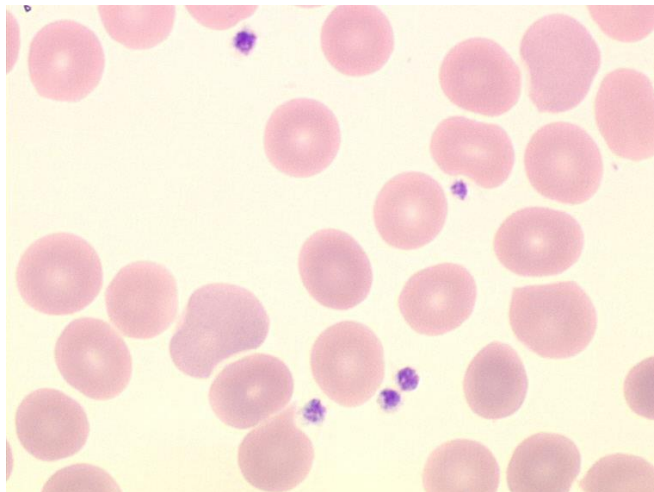
Bilan d'une thrombopénie isolée - Consultation à TRS – Enfant 10 ans

Plq 60G/l, VMP 13.7fl, Plq réticulées 17.7%

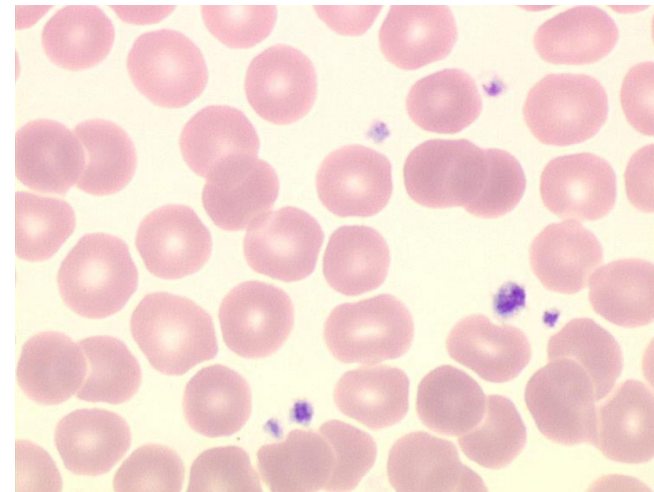
MGG – Frottis sanguin



Mère : Plq 247G/l, VMP 9.7fl, Plq réticulées 2%



Père : Plq 161G/l, VMP 10.1fl, Plq réticulées 3.3%

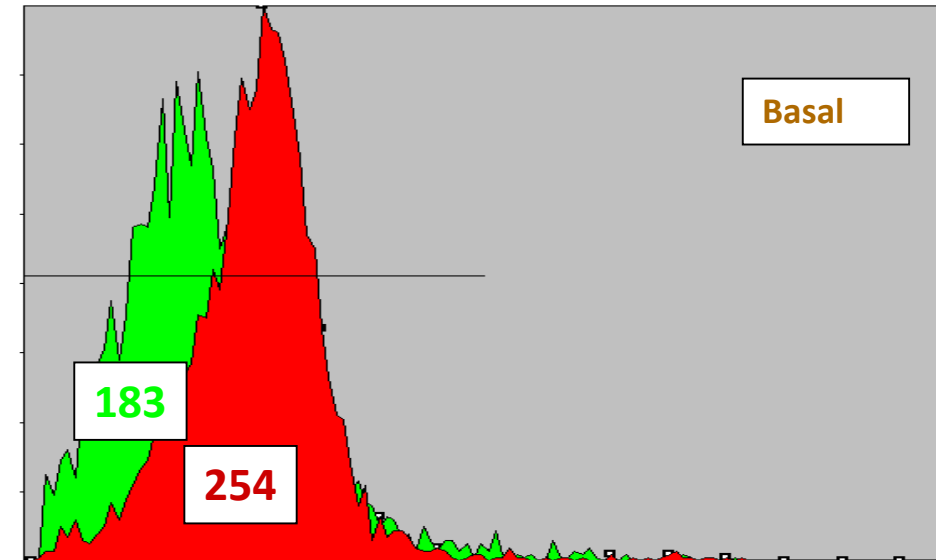


CMF - EXPRESSION de la P-Sélectine (et CD63) – Etat basal et après activation / TRAP

nombre de sites antigéniques par plaquette

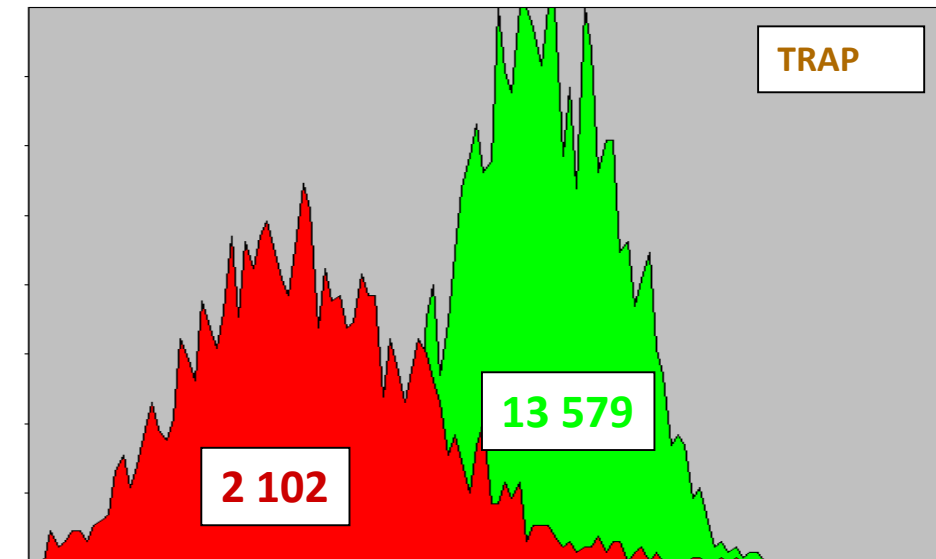
- **Histogramme 1:** patient normal
183 sites/plaquette
- **Histogramme 2:** patient patho
254 sites/plaquette
- Profils identiques

Normale < 1000 sites/Plaquette



- **Histogramme 1:** patient normal
13 579 sites/plaquette
- **Histogramme 2:** patient patho
2 102 sites/plaquette
- Profils différents:
Pas d'activation par la thrombine

Normale P-selectine > 5000 sites/Plaquette



Défaut de sécrétion des granules denses et alpha

Résultat NGS – Mutation du gène NBEAL2

Syndrome des plaquettes grises

Bilan d'une thrombopénie gestationnelle - Consultation à TRS – 31 ans

- Thrombopénie gestationnelle en 2016, 2020, 2021 à 80 G/L, Accouchement par voie basse sans hémorragie en post-partum
- Thrombopénie gestationnelle en 2023 à 50 G/L
 - Corticoïdes à 36 SA remontant les plaquettes à 80 G/L
 - Hémorragie du post-partum
 - Post partum, plaquettes à 106 G/L en janvier 2024
- Ecchymose gingivorragie métrorragie (ISTH BAT 7)
- Bilan PTI réalisé en 2022 négatif
 - Plaquettes= 119 G/L
 - FAN neg
 - APL neg
 - Gammaglobuline N

CMF - EXPRESSION de la GPIIb à l'état basal et après activation par la thrombine

nombre de sites antigéniques par plaquette

Thrombopénie isolée à 114 G/l, VMP 11,9fl, IPF 7,7%, IPF VA 8,77 G/l, Morphologie plaquettaire sans particularités
TPO : 21,6 pg/ml

Etat basal	CD41a (GPIIb)	CD42b (GPIb)	CD63	GMP140 (P-sélectine)
Témoin Nombre de sites antigéniques / Plaquette	64 569	41 023	465	252
Mme P Nombre de sites antigéniques / Plaquette	30 425	39 725	183	<50
Valeurs attendues	51 100 ± 14 000	38 000 ± 11 000	< 1 000	< 1 000

Après activation par le TRAP	CD41a (GPIIb)	CD42b (GPIb)	CD63	GMP140 (P-sélectine)
Témoin Nombre de sites antigéniques / Plaquette	129 190	30 662	9 767	10 788
Mme P Nombre de sites antigéniques / Plaquette	27 698	15 191	4 524	6 651
Valeurs attendues	85 100 ± 27 000	19 000 ± 10 000	> 3 500	> 5 000

Déficit en GPIIb à l'état basal et après activation par la thrombine

Résultat NGS – Variant hétérozygote classe 4 de ITGA2B codant pour GpIIb
Responsable du Bleeding disorder platelet-type 16 (pseudo-Glanzmann)

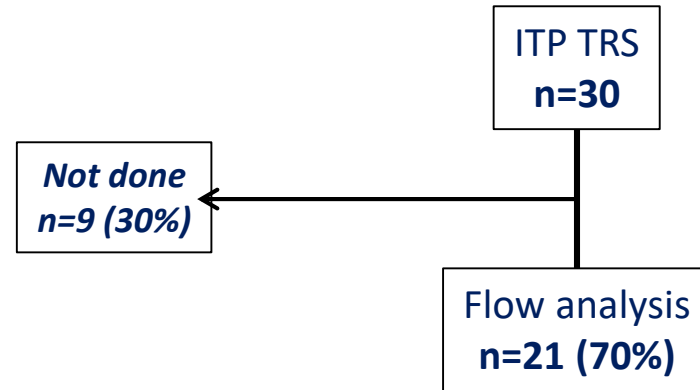
Etude PTI chronique chez l'enfant - TRS

PTI - Etude phénotype / génotype TRS

Baseline characteristics <i>February 2001 to July 2021</i>	Children with newly diagnosed ITP n = 30 (%)
Gender,	
- Male	12 (40)
- Female	18 (60)
Female-male ratio	1.5
Age at diagnosis (years),	
Median age [min, max]	4.9 [1.4; 15.2]
- 1-4 years	17 (56.6)
- 5-10 years	8 (26.6)
- 11-16 years	5 (16.7)
Platelet count at diagnosis (G/l),	
Median [min; max]	9 [3; 80]
- < 10 G/l	18 (60.0)
- ≥ 10 G/l	12 (40.0)
Buchanan score at diagnosis,	
- 1 or 2 (cutaneous bleeding)	17 (56.7)
- ≥ 3 (moderate mucocutaneous bleeding)	13 (43.3)
Bone marrow aspiration,	16/30
- Typical for ITP	16/16 (100.0)
Platelet Isotope test [¹¹¹In]	12/30
- Shortened lifespan	12/12 (100.0)
- Splenic destruction	8/12 (66.7)
- Peripheral destruction	4/12 (33.3)
Not treated	2/30 (6)
Treated,	28/30 (94)
- IgIV response	12/28 (42.8)
- Corticosteroids and IV Ig response	9/28 (32.2)
- Failed to both treatment/poor response	7/28 (25)
Outcome,	
- Recovery normal platelet count (≥150 G/L)	6/30 (20%)
- Persistent thrombocytopenia	24/30 (80%)
- <20G/L	3/24
- ≥20 G/L	21/24
Mean age at last follow-up (years) [min; max]	15.9 [7.3 ; 28]

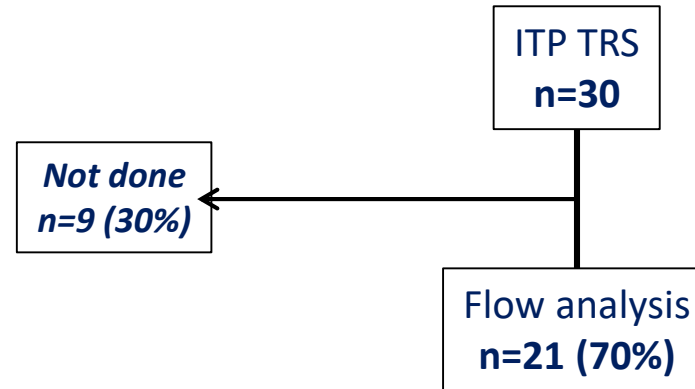
Expression des glycoprotéines plaquettaires par CMF

PTI - Etude phénotype / génotype TRS



Expression des glycoprotéines plaquettaires par CMF

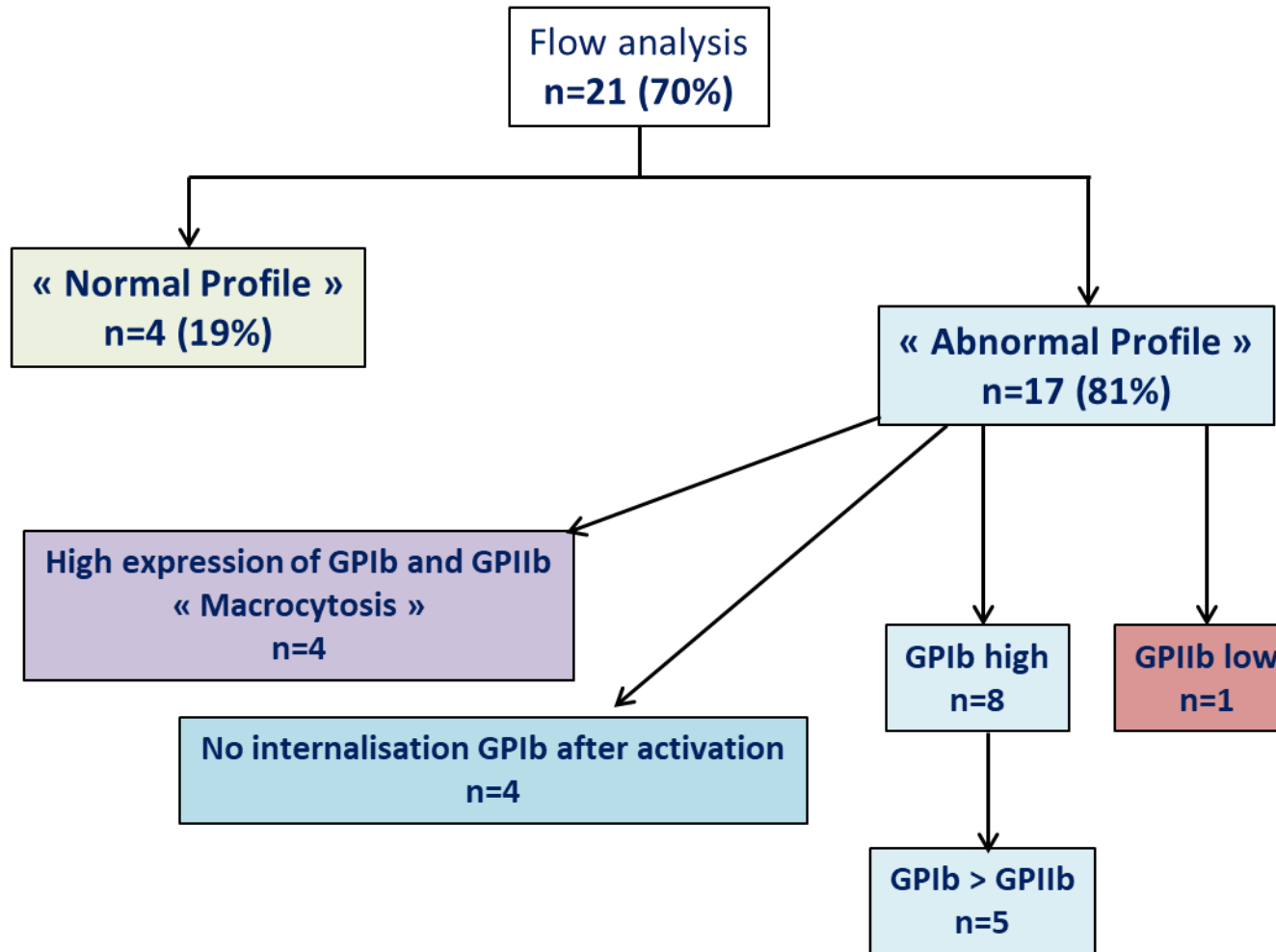
PTI - Etude phénotype / génotype TRS



	Médiane	Extrêmes	Normale
Taux de plaquettes, G/l	56	14 - 149	150 - 450
VMP, fl	11,9	9,6 - 12,7	9 - 12
IPF, %	5,9	2,5 - 30,3	1,1 - 6,1
IPF, G/l	2,72	1,79 - 11,11	3 - 18
Macroplaquettes, %	9	3-26	
GPIIb basal, nbre sites	57 946	30 594 - 90 991	37 100 - 71 600
GPIIb TRAP, nbre sites	87 023	52 875 - 138 332	58 100 - 122 700
GPIb basal, nbre sites	50 024	29 631 - 80 863	25 900 - 49 000
GPIb TRAP, nbre sites	35 362	17 201 - 74 985	9 000 - 32 600

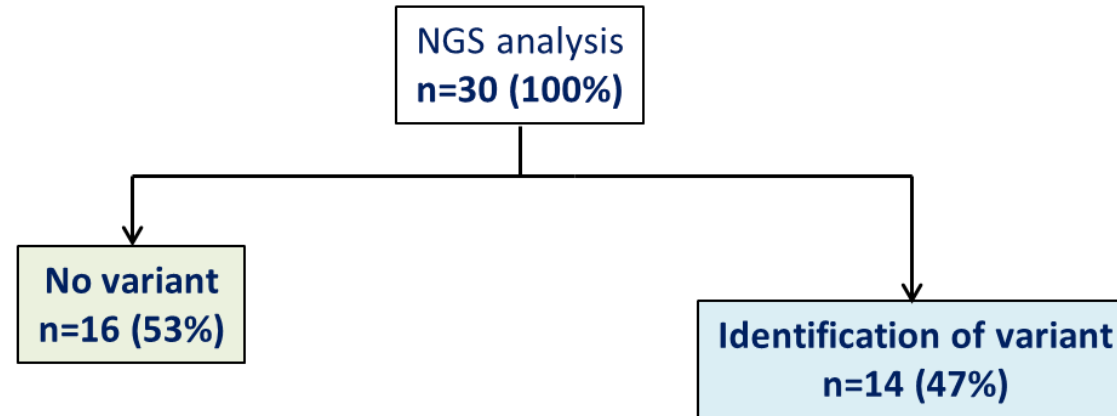
Expression des glycoprotéines plaquettaires par CMF

PTI - Etude phénotype / génotype TRS



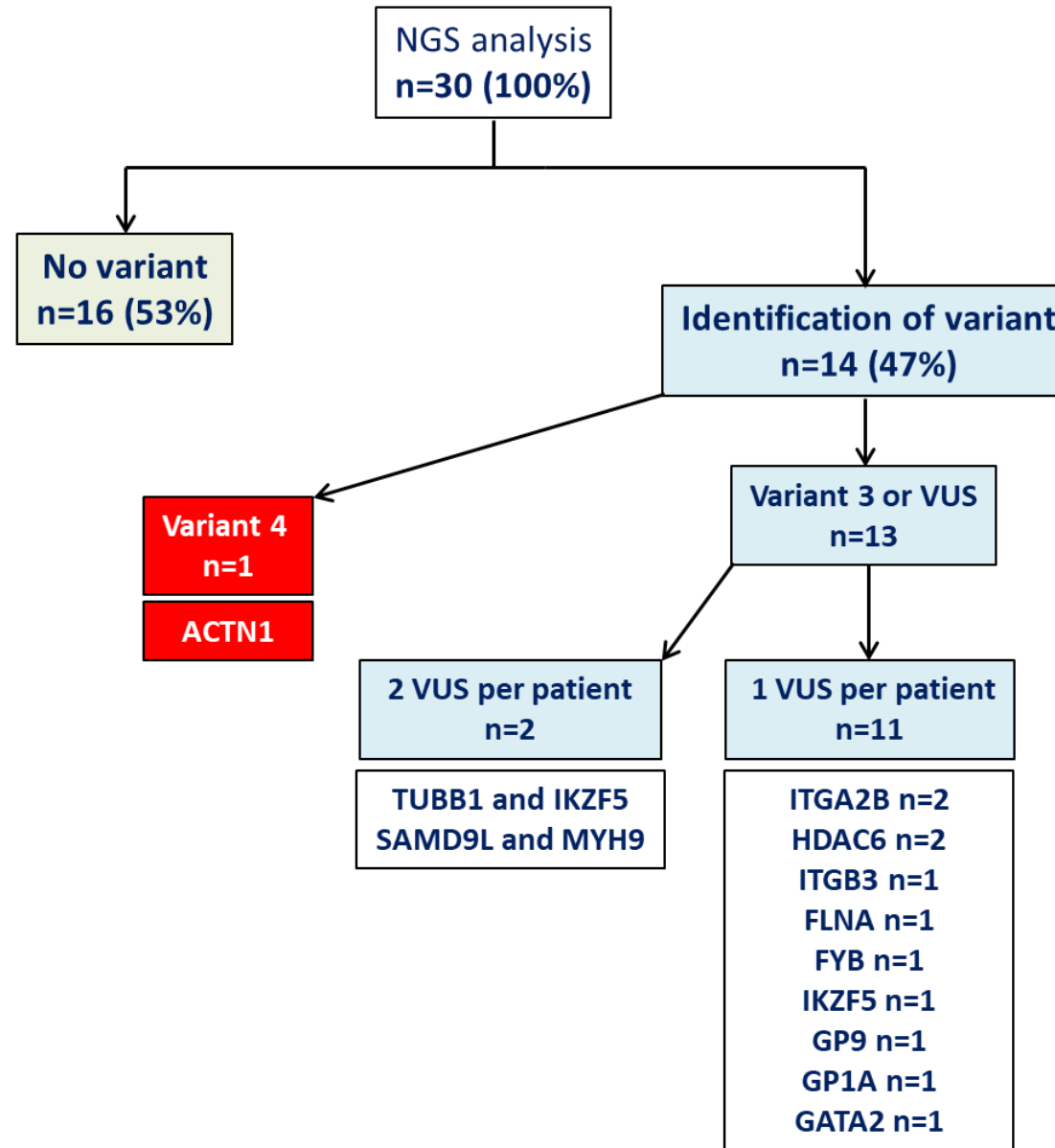
Etude Génétique

PTI – Etude Phénotype / Génotype TRS



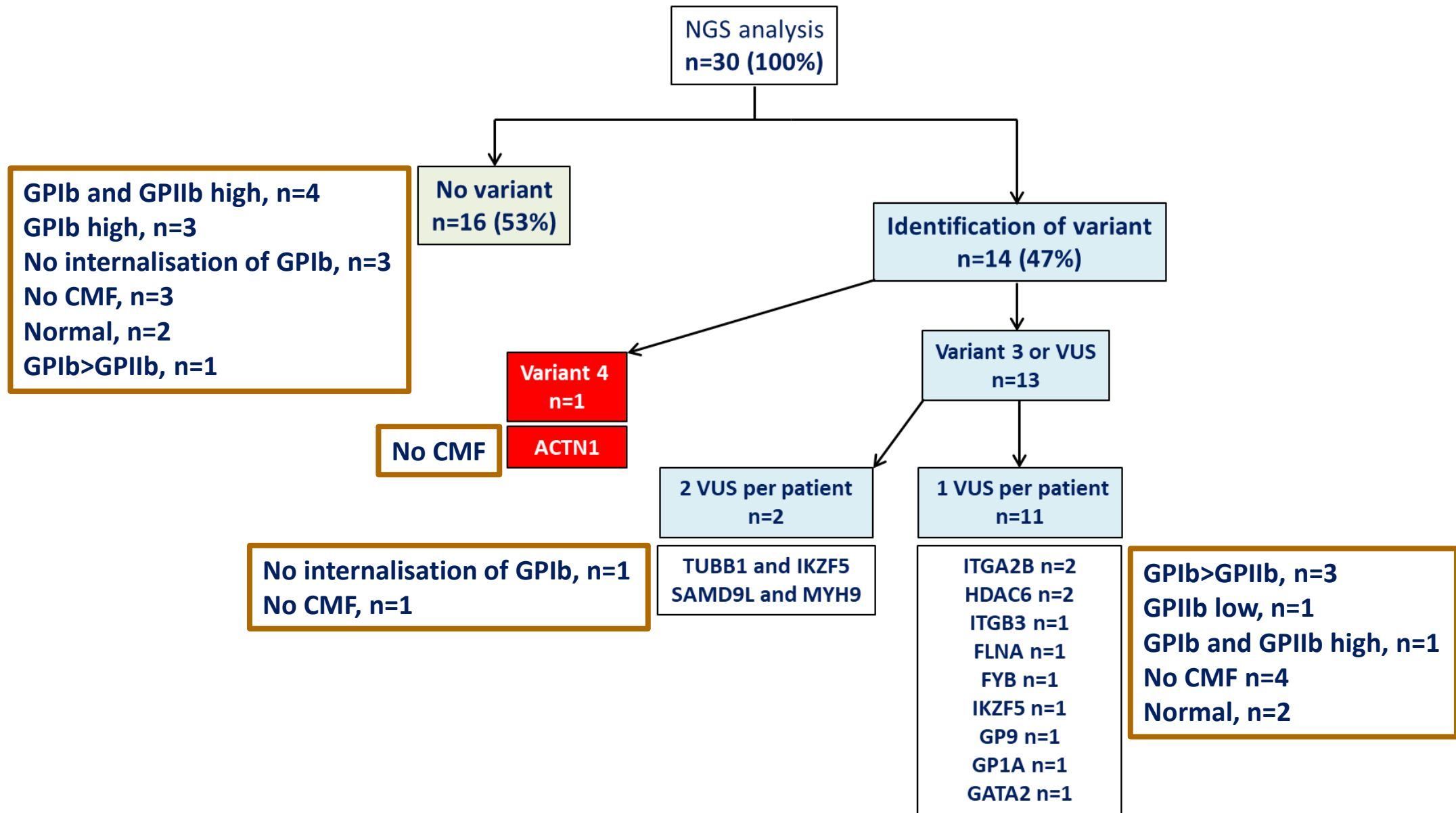
Etude Génétique

PTI – Etude Phénotype / Génotype TRS



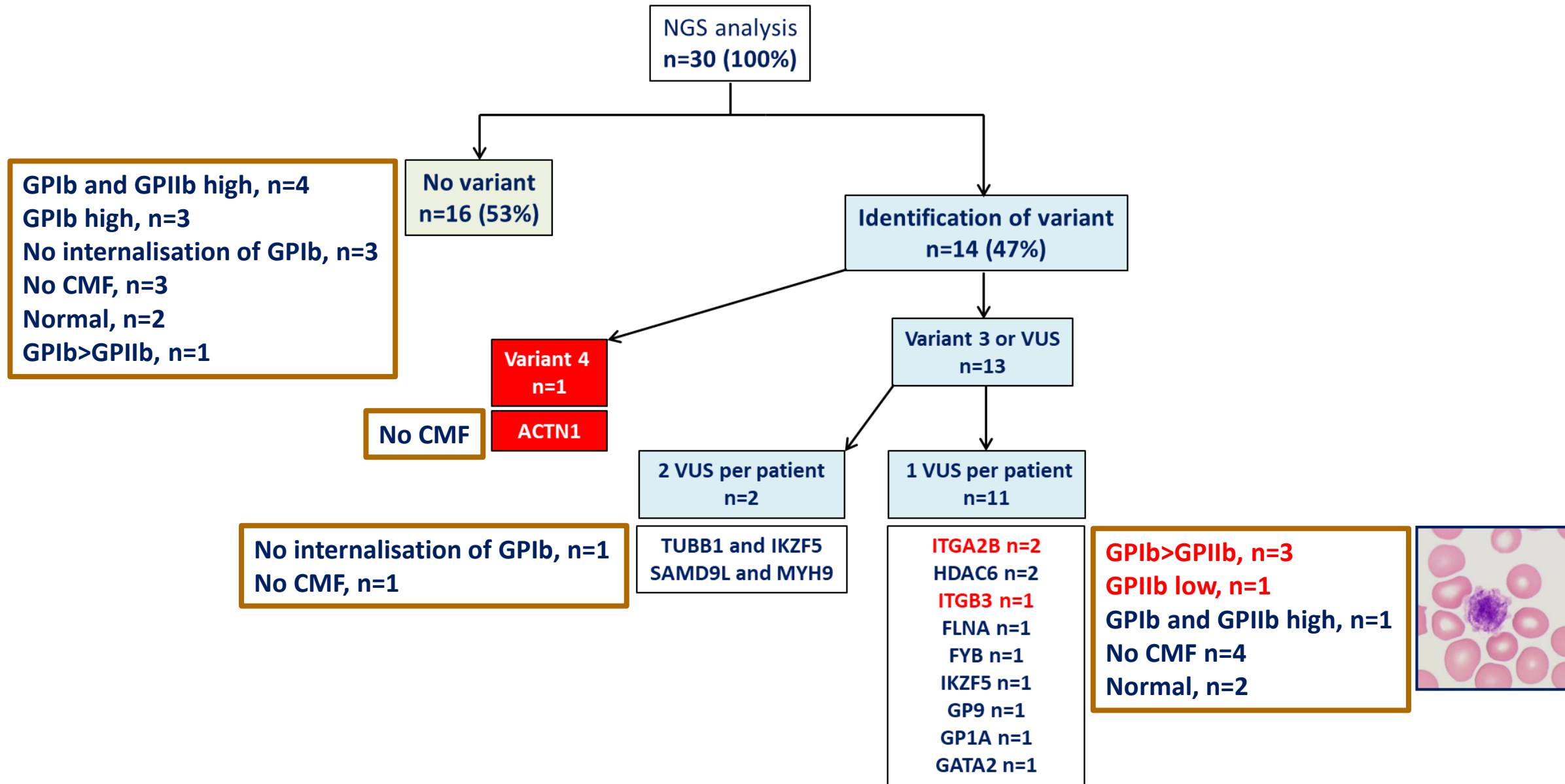
Etude Génétique

PTI – Etude Phénotype / Génotype TRS



Etude Génétique

PTI – Etude Phénotype / Génotype TRS



Etude PTI chronique chez l'enfant - TRS

PTI - Etude phénotype / génotype TRS

Etude NGS a permis d'identifier une thrombopénie constitutionnelle / 30 PTIc (environ 3%)

Approfondir la correspondance phénotype / génotype chez les 3 patients avec

- CMF GPIb élevée > GPIIb, qui serait en faveur d'un déficit relatif en GPIIb**
- NGS identifie des VUS des gènes ITGA2B et ITGB3 (pseudo-Glanzmann ?)**

Discussion au cours des RCP « Plaquettes » pour analyse NGS des PTIc

PTI ou thrombopénie constitutionnelle

Pour le biologiste en Hématologie,

- En première intention – NFS avec analyse cytologique du frottis sanguin
- En seconde intention – Cytométrie en flux (agrégométrie si possible) et dosage de la TPO
- En troisième intention – Etude génétique et selon contexte microscopie électronique

Myélogramme actuellement non recommandé sauf profil clinique atypique

Diagnostic différentiel = Faisceaux d'arguments

Mais essentiel pour aider à:

- Une prise en charge thérapeutique adaptée (vie courante, péri-opératoire, ...)
- Un suivi clinique et biologique argumenté (predisposition aux hémopathies, conseil génétique, NGS...)

Laboratoire d'Hématologie

- Dr Paola Ballerini
- Dr Boutheina Bouslama
- Dr Tassadit Kheyar
- Dr Guillaume Nguyen
- Techniciens du laboratoire

Service d'onco-Hématologie

- Pr Guy Leverger
- Pr Arnaud Petit
- Pr Judith Landman-Parker
- Pr Sébastien Héritier
- Dr Mathieu Simonin
- Dr Marie-Dominique Tabone
- Dr Jean Donadieu
- Dr Fany Alby-Laurent
- Dr Aurélia Alimi

Coordonnation CRPP- TRS

- Dr Hélène Boutroux
- Pr Hélène Lapillonne
- Roula Hachem, IG recherche clinique

