



Auteurs

Tiffany PASCRAU

AHU, service d'hématologie biologique, hôpital Necker-Enfants malades et UMR 1176, Université Paris-Sud.

Coécrit avec :

Delphine BORGEL
PU-PH.

Dominique LASNE
PH.

Service d'hématologie biologique, hôpital Necker-Enfants malades et UMR 1176, Université Paris-Sud.

Expertise :

Hémostase pédiatrique, thrombose, inflammation, inhibiteurs de la coagulation.

Déclaration publique d'intérêts :

Aucun.

Correspondance :

AP-HP Necker-Enfants malades, Université Paris Descartes, Paris.
delphine.borgel@aphp.fr
dominique.lasne@aphp.fr

Mots clés :

thrombose veineuse, thrombophilie, biomarqueurs, interprétation biologique.

Keywords :

venous thromboembolism, inherited thrombophilia, biomarkers, biological interpretation.

Bilan de thrombose : état des lieux et nouveaux biomarqueurs

Résumé

La thrombophilie est impliquée de façon variable dans la maladie thromboembolique veineuse (MTEV) en fonction des situations (cancer, grossesse, période néonatale...). Il est important de bien prendre en considération le contexte clinique de la thrombose afin de cibler au mieux les patients pour lesquels une recherche de thrombophilie est nécessaire et de choisir les examens appropriés à réaliser.

Maladie thromboembolique veineuse (MTEV)

La MTEV, qui regroupe la thrombose veineuse profonde (TVP) et l'embolie pulmonaire (EP), est une affection fréquente, avec une incidence annuelle de 1 pour 1 000, et représente la 3^e cause de mortalité cardiovasculaire. La survenue d'évènements thromboemboliques veineux est multifactorielle et déterminée par des facteurs environnementaux et génétiques. Parmi les facteurs de risque acquis bien connus on trouve l'immobilisation prolongée, la chirurgie, la grossesse, la prise d'oestrogènes, l'obésité, le tabac, le diabète, les maladies inflammatoires chroniques, et il est indispensable de les identifier afin de déterminer le caractère provoqué ou non de la thrombose. La thrombophilie biologique désigne des anomalies de l'hémostase héréditaires ou acquises prédisposant aux thromboses.

La thrombophilie héréditaire n'explique qu'une faible proportion des manifestations thromboemboliques veineuses, et les anomalies biologiques héréditaires les plus fréquentes sont la mutation R506Q du gène du facteur V encore appelé FV Leiden (5 % de la population européenne), et la mutation G20210A du gène de la prothrombine (2 %). Des déficits en antithrombine (AT), protéine C (PC), protéine S (PS) sont retrouvés beaucoup plus rarement (< 1 % de la population européenne)⁽¹⁾. La thrombophilie héréditaire se manifeste de façon plus ou moins sévère et précoce en fonction du génotype. Le risque de thrombose dépend du type de thrombophilie et est détaillé dans le **tableau 1**^(2,3). De façon intéressante, dans une méta-analyse récente portant sur plus de 11 000 cas de thromboses veineuses, il ressort que les sujets doubles hétérozygotes pour les mutations R506Q et G20210A ne sont pas exposés à un risque plus élevé de thrombose que les sujets hétérozygotes FVL seul. Le déficit homozygote en AT, quant à lui, est léthal (excepté les déficits qualitatifs type HBS, dans lesquels le site de liaison à l'héparine est anormal et qui sont associés à un risque thrombotique moins sévère) et les déficits homozygotes en PC et PS sont très rares et associés à un risque très élevé de thrombose qui se manifeste par un *purpura fulminans* à la naissance. Concernant la thrombophilie biologique acquise, le syndrome des

Abstract

Inherited thrombophilia participates in venous thromboembolism disease in different clinical context (cancer, pregnancy, neonatal period...). It is important to analyse the different situations in order to define patients who need a thrombophilia screening.

anti-phospholipides (SAPL) reste l'anomalie la plus fréquente.

Thrombose et cancer

Les cancers sont des pathologies particulièrement thrombogènes qui exposent les patients à un risque de thrombose dont l'incidence dépend du type et du stade de la tumeur. La thrombose peut même être révélatrice de la maladie. L'implication de la thrombophilie biologique est difficile à évaluer dans ce contexte multifactoriel dans lequel le rôle du cancer est prépondérant. Il n'est donc à ce jour pas recommandé de rechercher une thrombophilie chez ces patients.

Thrombose et grossesse

La grossesse est un état d'hypercoagulabilité physiologique, qui, dans certaines situations peut entraîner une thrombose. Le risque de thrombose est particulièrement important en *post-partum*. La césarienne est une situation à risque bien connue, mais d'autres facteurs ont été identifiés comme une naissance mort-née, la présence de comorbidités (varices, maladie inflammatoire de l'intestin, maladie cardiaque), une obésité, une hémorragie obstétricale, ou un accouchement prématuré⁽⁴⁾.

Concernant les femmes avec des antécédents obstétricaux inexplicables, il n'est pas recommandé de rechercher une thrombophilie héréditaire s'il s'agit d'une fausse couche précoce ou d'une mort fœtale *in utero* car aucune étude n'a permis de conclure à une association significative entre les thrombophilies biologiques constitutionnelles et les pertes de grossesse⁽⁵⁾. En revanche, une mort fœtale à plus de 10 semaines d'aménorrhée ou plus de trois fausses couches précoces consécutives doivent motiver la recherche d'un SAPL⁽⁵⁾.

Thrombose en pédiatrie

Au sein de la population pédiatrique, ce sont les nouveau-nés qui sont les plus exposés à un risque de thrombose (5,1/100 000 naissances/an). Un second pic d'incidence est observé au moment de la puberté, notamment chez les adolescentes. Le principal facteur de risque retrouvé dans cette population est la présence d'un cathéter veineux central. La thrombose peut également être associée à des cancers, des anomalies

Thrombophilie	OR (95%, CIs)
Déficit antithrombine	16,26 (9,90-26,70)
Mutation homozygote FVL	11,45 (6,79-19,29)
Déficit protéine C	7,51 (3,21-17,52)
Déficit protéine S	5,37 (2,70-10,67)
Mutation hétérozygote FVL	4,22 (3,35-5,32)
Double hétérozygote (G20210A + FVL)	3,42 (1,64-7,13)
Mutation hétérozygote facteur II	2,79 (2,25-3,46)

Tableau 1 : Risque de 1^{er} évènement thromboembolique en fonction du type de thrombophilie.

FVL : facteur V Leiden ; Facteur II : mutation G20210A du gène de la prothrombine ; SAPL : syndrome des antiphospholipides.
Source : Dario Di Minno, *Thromb Res*, 2015 ; Simone, *Eur J Epidemiol* 2013.

cardiaques ou à un syndrome néphrotique chez l'enfant. La recherche d'une thrombophilie n'est pas recommandée en pédiatrie en cas de thrombose sur cathéter et reste discutée dans les autres situations, sachant que l'histoire familiale est l'élément le plus prédictif de récurrence dans cette population^[6].

Un contexte clinique particulier, le *purpura fulminans* néonatal ou post-infectieux, nécessite cependant la recherche en urgence d'un déficit sévère en protéine C et protéine S. Dans tous les cas, lorsqu'un bilan de thrombose est réalisé, son interprétation peut s'avérer difficile en période néonatale compte tenu de la diminution physiologique de nombreux facteurs et inhibiteurs de la coagulation. Dans ce cas un prélèvement des parents peut s'avérer informatif.

Thrombophilie : quels paramètres tester et pour quel patient ?

Les facteurs biologiques de risque sont à rechercher

en cas de 1^{er} évènement thrombotique non provoqué, survenu avant l'âge de 60 ans ou chez les femmes en âge de procréer que l'épisode soit provoqué ou non. En cas de récurrence, l'exploration est recommandée, que la thrombose soit provoquée ou non, si le 1^{er} évènement a eu lieu avant l'âge de 60 ans. L'existence d'antécédents familiaux (notamment chez les apparentés du 1^{er} degré) sera prise en compte dans la décision de réaliser un bilan de thrombose. Les anomalies biologiques à rechercher sont reportées dans le **tableau 2**. Dans tous les cas, il est préférable de réaliser le bilan de thrombose à distance de la phase aiguë de la thrombose veineuse et à l'arrêt du traitement anticoagulant^[7].

La recherche d'une hyperhomocystéinémie a été largement discutée et il a finalement été montré qu'une hyperhomocystéinémie faible ou modérée n'augmentait pas le risque de thrombose veineuse^[8]. Seule l'hyperhomocystéinémie sévère, qui est souvent accompagnée de signes neurologiques, est associée à un risque de thromboses survenant tôt dans la vie. Ainsi, le dosage

Paramètres biologiques du bilan de thrombose classique
Test de résistance à la protéine C activée et/ou recherche de la mutation du gène du facteur V Leiden
Recherche de la mutation G20210A du gène de la prothrombine (facteur II)
Protéine C (activité)
Protéine S (activité)
Antithrombine (activité)
Recherche d'anticorps : anticorps anticardiolipine, anticorps anti- β 2GPI, anticoagulant circulant lupique
Paramètres biologiques à rechercher en cas de thrombose dans le territoire abdominal ou de MTEV grave chez le sujet jeune
Recherche de la mutation JAK-2 ou recherche d'un clone HPN en cas de thrombose du territoire abdominal
< 30 ans avec thrombose inexpliquée veineuse ou artérielle : dosage de l'homocystéine

Tableau 2 : Paramètres biologiques explorés dans le cadre d'un bilan de thrombose.

	Variations physiologiques	Variations acquises
Antithrombine (AT) Activité cofacteur de l'héparine	Taux à la naissance : 39 % ± 13,7 ⁽¹¹⁾ . Se normalise au cours de la première année de vie.	<p>Diminution</p> <ul style="list-style-type: none"> - Syndrome néphrotique, IHC, thromboses étendues, CIVD - Traitements (HNF, L-asparaginase) <p>Augmentation</p> <ul style="list-style-type: none"> - AOD (par interférence sur le dosage selon l'AOD et la méthode de dosage de l'AT)
Protéine C (PC) Activité anticoagulante	Taux à la naissance : 24 % ± 9 ⁽¹¹⁾ . Se normalise à l'adolescence.	<p>Diminution</p> <ul style="list-style-type: none"> - IHC, hypovitaminose K, thromboses étendues, CIVD, auto-anticorps - Traitement : AVK <p>Augmentation</p> <ul style="list-style-type: none"> - AOD (par interférence sur le dosage)
Protéine S (PS) Activité cofacteur de la PCa	Taux à la naissance : 31.1% ± 5,9 ⁽¹¹⁾ . Se normalise vers l'âge de 6 mois.	<p>Diminution</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grossesse (dès 10 SA), IHC, hypovitaminose K, thromboses étendues, CIVD, auto-anticorps - Traitements : AVK, CO, THS, L-asparaginase <p>Augmentation</p> <ul style="list-style-type: none"> - AOD (par interférence sur le dosage) <p>Autres variations</p> <ul style="list-style-type: none"> - Impact variable de l'inflammation sur les taux de PS (dépend du contexte inflammatoire)
Test de résistance à la protéine C activée (RPCA)		<p>Faux négatifs</p> <ul style="list-style-type: none"> - AOD <p>Discordance avec la recherche de mutation du gène du facteur V Leiden</p> <ul style="list-style-type: none"> - Greffe hépatique, greffe de moelle osseuse
Recherche de la mutation du gène du facteur V Leiden		<p>Discordance avec le test de résistance à la protéine C activée</p> <ul style="list-style-type: none"> - Greffe hépatique, greffe de moelle osseuse
Recherche de la mutation G20210A du gène de la prothrombine		<p>Attention à l'interprétation en cas de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Greffe de moelle osseuse
Anticorps anti-PLs (cardiolipine ou β2GPI)		<p>Détection transitoire</p> <ul style="list-style-type: none"> - Infections (présence de l'anticorps transitoire)

Tableau 3 : Variations physiologiques et acquises des paramètres biologiques du bilan de thrombose. IHC : insuffisance hépato-cellulaire ; CIVD : coagulation intra-vasculaire disséminée ; HNF : héparine non fractionnée ; CO : contraceptifs oraux ; AOD : anticoagulants oraux directs ; AVK : anti-vitamine K ; THS : traitement hormonal substitutif ; PLs : phospholipides.

de l'homocystéine n'est à envisager que dans les cas de MTEV graves chez l'enfant et l'adulte jeune (< 30 ans). Il n'y a donc pas d'intérêt à réaliser ce dosage de façon systématique.

Lorsque la thrombose survient dans le territoire abdominal, elle peut être évocatrice d'un syndrome myéloprolifératif (SMP). En effet, la moitié des thromboses splanchniques sont liées à un SMP. Il est donc utile de rechercher les mutations associées : JAK2V617F et plus récemment les mutations des gènes codant pour le récepteur de la thrombopoïétine MPL et la

calréticuline. Les mutations de la calréticuline sont associées à un risque de thrombose plus faible que la mutation JAK2V617F. La recherche d'une hémoglobinurie paroxystique nocturne HPN doit également être réalisée en cas de thrombose dans le territoire abdominal, cérébral ou dermique.

Quant au dosage du facteur VIII, même si l'intérêt de son dosage a largement été débattu, les recommandations actuelles n'incluent pas ce dosage notamment en raison de la difficulté d'établir un seuil à partir duquel le FVIII est associé à un risque de thrombose.

Interprétation du bilan, les pièges à éviter

L'interprétation d'un bilan de thrombose reste délicate car il faut tenir compte du contexte physiologique (nouveau-né, grossesse), pathologique (infection, inflammation), ou de la prise médicamenteuse (héparine, AVK, anticoagulants oraux directs, chimiothérapie). Ces variations sont détaillées dans le **tableau 3**. Par ailleurs, dans un contexte de greffe de moelle osseuse ou hépatique, des discordances peuvent être observées entre le statut mutationnel du gène du facteur V (déterminé sur les leucocytes circulants) et le phénotype plasmatique des patients. Seul le test de résistance à la protéine C activée permettra de conclure à la présence ou non d'une anomalie du facteur V Leiden chez le patient.

Autres marqueurs biologiques de thrombose

De nombreux biomarqueurs ont été étudiés au sein de populations de patients cancéreux afin d'identifier au mieux les patients à risque de thrombose. La numération leucocytaire et plaquettaire, ainsi que la concentration en hémoglobine permettent l'évaluation du risque de thrombose avec le score de Khorana.

Un nouveau score appelé score de Vienne, intègre en plus de ces paramètres hématologiques, les concentrations en d-dimères (> 1,44 µg/ml) et en P-sélectine soluble, ce qui accroît la valeur prédictive

du risque⁽⁹⁾. Le dosage des fragments 1+2 de la prothrombine a également été testé mais s'est avéré non prédictif tout comme le dosage de la protéine C réactive (CRP).

D'autres biomarqueurs potentiels comme la génération de thrombine ou le dosage de microparticules (MPs) ont été étudiés, mais leur défaut de standardisation rend leur évaluation difficile⁽⁹⁾.

En dehors du cancer, le développement ces dernières années, d'études d'association de génome appelées GWAS (*Genome-Wide Association Study*), a permis l'identification de nouveaux polymorphismes, TSPAN15 et SLC44A2, associés au risque de thrombose (OR 1.31 et 1.21 respectivement). Ces polymorphismes, situés en dehors des gènes impliqués dans les voies de l'hémostase, ouvrent de nouvelles pistes physiopathologiques de la MTEV⁽¹⁰⁾.

Conclusion

La recherche de thrombophilie biologique ne doit pas être réalisée de façon systématique devant toute manifestation thrombotique veineuse mais ne devra concerner que certains patients en fonction de leur âge, du contexte clinique de la thrombose et de l'histoire thrombotique personnelle et familiale.

Une grande partie des thromboses reste cependant inexplicée, et la découverte récente, par des approches de type GWAS, de nouveaux polymorphismes associés au risque de thrombose ouvre de nouvelles pistes physiopathologiques à explorer.

BIBLIOGRAPHIE

1. Lim MY & Moll S. *Thrombophilia. Vasc. Med.* 20, 193–196 (2015).
2. Di Minno MND et al. *Natural anticoagulants deficiency and the risk of venous thromboembolism: a meta-analysis of observational studies. Thromb. Res.* 135, 923–932 (2015).
3. Simone B et al. *Risk of venous thromboembolism associated with single and combined effects of Factor V Leiden, Prothrombin 20210A and Methylenetetrahydrofolate reductase C677T: a meta-analysis involving over 11,000 cases and 21,000 controls. Eur. J. Epidemiol.* 28, 621–647 (2013).
4. Sultan AA et al. *Risk factors for first venous thromboembolism around pregnancy: a population-based cohort study from the United Kingdom. Blood* 121, 3953–3961 (2013).
5. Nizard J. *G G-I [Chronic maternal diseases and pregnancy losses. French guidelines.]. J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)* 43, 865–882 (2014).
6. Klaassen I LM, Ommen CH van & Middeldorp S. *Manifestations and clinical impact of pediatric inherited thrombophilia. Blood* 125, 1073–1077 (2015).
7. Alhenc-Gelas M et al. *La recherche des facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse : état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique. Sang Thromb. Vais.* 21, 12–39 (2009).
8. Lijfering WM et al. *The risk of venous and arterial thrombosis in hyperhomocysteinaemia is low and mainly depends on concomitant thrombophilic defects. Thromb. Haemost.* 98, 457–463 (2007).
9. Pabinger I, Thaler J & Ay C. *Biomarkers for prediction of venous thromboembolism in cancer. Blood* 122, 2011–2018 (2013).
10. Germain M et al. *Meta-analysis of 65,734 individuals identifies TSPAN15 and SLC44A2 as two susceptibility loci for venous thromboembolism. Am. J. Hum. Genet.* 96, 532–542 (2015).
11. Mitsiakos et al. *Haemostatic profile of healthy premature small for gestational age neonates. Thromb Res.* 2010. Aug;126(2):103-6.