

Recommandations de recherche de facteurs biologiques de risque de maladie thromboembolique veineuse

À propos d'une observation.

M.-H. HORELLOU¹, C. FLAUJAC¹

RÉSUMÉ

Des recommandations récentes ont été faites concernant la recherche de facteurs biologiques de risque de maladie thromboembolique veineuse. Ces recommandations sont revues ici à partir d'une observation clinique.

MOTS-CLÉS : thrombose veineuse, thrombophilie.

I. - INTRODUCTION

Depuis la première description d'une anomalie constitutionnelle de l'hémostase prédisposant aux thromboses en 1965 par Egeberg - le déficit en antithrombine - de nouveaux facteurs biologiques de risque (FBR) de maladie thromboembolique veineuse (MTEV) ont été décrits, retrouvés chez près de 40 % des patients présentant des thromboses veineuses. La « thrombophilie » est le plus souvent définie comme l'ensemble des anomalies de l'hémostase prédisposant aux thromboses mais, aujourd'hui encore, aucune anomalie n'est retrouvée chez 60 % des patients présentant une histoire familiale de thrombose et, d'autre part, un bon nombre de patients présentant une « thrombophilie » biologique sont asymptomatiques.

Ces deux réserves font préférer une définition plus clinique de la thrombophilie, englobant tous les patients présentant des manifestations thromboemboliques avant 50 ans ou des thromboses récidivantes, et toutes les situations cliniques prédisposant aux thromboses.

Des recommandations récentes de recherche de ces FBR ont été publiées (1). Ces recommandations seront rappelées à partir d'une observation clinique.

II. - OBSERVATION

Mme PO., âgée de 34 ans, présente une thrombose veineuse fémoro-poplitée gauche, confirmée par échodoppler veineux des membres inférieurs. Elle n'a pas d'antécédents personnels particuliers et a eu 2 grossesses, l'une à 28 ans et l'autre à 30 ans. L'interrogatoire ne retrouve pas d'antécédents familiaux de MTEV chez ses parents et ses 4 frères et sœurs. Elle recevait une contraception œstroprogestative par éthinyloestradiol 30 mg et drospirénone 3 mg (Jasmine®) depuis 2 ans, et cette thrombose veineuse est apparue au retour d'un voyage aux États-Unis. La patiente est prise en charge en ambulatoire et le traitement anticoagulant a été débuté dès la confirmation du diagnostic par son médecin vasculaire, associant Fondaparinux (Arixtra® 7,5 mg/j) et Fluindione (Préviscan®).

¹ Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Cochin. 75014 Paris.

Tableau I - Chez quels patients rechercher un FBR de MTEV ?

Recherche recommandée	Recherche non recommandée
<ul style="list-style-type: none"> ■ 1^{er} épisode de TVP proximale et/ou EP : – Avant l'âge de 60 ans – En l'absence de facteur déclenchant, dans le but d'adapter la durée du traitement anticoagulant et de définir les conduites à tenir pour les apparentés (grade C) – Chez les femmes en âge de procréer, que l'épisode soit provoqué ou non, compte tenu de l'impact sur la prise en charge des grossesses (grade C) ■ Récidive : toute récidive de TVP proximale et/ou EP (provoquée ou non) et toute récidive de TVP distale non provoquée dont le premier épisode est survenu avant 60 ans (accord professionnel) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ 1^{er} épisode de TVP proximale et/ou EP après 60 ans (grade B) ■ Thrombose veineuse superficielle (grade C) ■ TVP distale, sauf détection d'antiphospholipides / anti-2GPI et d'anticoagulants circulants de type lupus chez les patients lupiques (accord professionnel) ■ Chez l'homme, pas de recherche systématique en cas de 1^{er} épisode survenant avant 60 ans, après circonstances déclenchantes majeures (grade B), et en l'absence de famille informative (grade C)

TVP : thrombose veineuse profonde ; EP : embolie pulmonaire.

III. - FAITES-VOUS UNE RECHERCHE DE FBR DE MTEV CHEZ CETTE PATIENTE ?

Oui, la recherche de FBR est recommandée dans l'exploration des thromboses veineuses proximales chez les femmes en âge de procréer, que l'épisode soit provoqué ou non, compte tenu de l'impact sur la prise en charge des grossesses.

Les recommandations concernant cette recherche sont appelées dans le **tableau I**.

IV. - QUAND RÉALISEREZ-VOUS CETTE RECHERCHE ?

En dehors des mesures des concentrations de protéine C (PC) et de protéine S (PS), l'exploration de première intention sera envisagée même pendant le traitement par antivitamines K (AVK), si les résultats de celle-ci sont susceptibles d'influencer la durée du traitement (accord professionnel). En effet, la mise en évidence d'un déficit en antithrombine ou la persistance d'antiphospholipides (caractérisé par la présence d'un anticoagulant circulant de type lupus et/ou augmentation du taux d'anticorps anticardiolipine et/ou augmentation du taux d'anticorps anti-β2GPI) sont des thrombophilies biologiques reconnues à haut risque de récurrence de MTEV. Leur mise en évidence fait proposer une augmentation de durée du traitement anticoagulant voire un traitement anticoagulant au long cours.

V. - LES EXAMENS BIOLOGIQUES RÉALISÉS SOUS PRÉVISCAN® DONNENT LES RÉSULTATS SUIVANTS :

NFS : normale.

INR (*international normalized ratio*) = 2,5.

TCA (temps de céphaline avec activateur) = 40 sec / témoin 30 sec (réactif CK Prest®).

Antithrombine activité cofacteur de l'héparine = 95 %.

Tableau II - Quels dosages demander, quand faire les dosages ?

Quels dosages ?

Antithrombine
Protéine C
Protéine S
Test de résistance à la protéine C activée et/ou facteur V Leiden
Mutation G20210A du gène de la prothrombine
Recherche de syndrome des antiphospholipides
Le dosage d'homocystéine est réservé aux formes graves de MTEV chez l'enfant et l'adulte jeune, en particulier lorsqu'un tableau neurologique est associé (grade C).

Quand faire les dosages

En dehors des mesures des concentrations de protéine C et de protéine S, l'exploration de 1^{ère} intention sera envisagée même pendant le traitement par AVK.

Test de résistance à la protéine C activée ratio = 1,54 (normale > 2,1).

IgG anticardiolipine = 8 UGPL (N < 15 UGPL).

IgM anticardiolipine = 4 UMPL (N < 10 UMPL).

A) Est-ce que cette recherche est complète ?

Non, ce « bilan » n'est pas complet, les recherches recommandées sont rappelées dans le **tableau II**.

Les dosages de PC et de PS ne sont pas demandés sous AVK. En revanche, il faut effectuer une recherche de la mutation G20210A du gène de la prothrombine et une recherche d'anticorps anti-β2GPI. Le dosage d'homocystéine pourrait être réalisé chez cette femme jeune présentant une thrombose veineuse proximale.

La recherche d'anticoagulant circulant de type lupus (LA) ne doit pas être limitée à un TCA et plus particulièrement au TCA avec le réactif CK Prest® (activateur kaolin) peu sensible aux LA. Aucun test n'est en mesure de détecter la totalité des LA compte tenu de leur grande hétérogénéité. Il est donc indispensable de réaliser en parallèle deux tests de dépistage sensibles et explorant des

segments différents de la cascade de la coagulation (3). Le dépistage du LA sera considéré comme positif si au moins un des deux tests est allongé.

Compte tenu de sa robustesse, le premier test recommandé est le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT, *dilute Russell's viper venom time*). Dans ce test, la coagulation est déclenchée par l'activation du facteur X à l'aide d'un extrait de venin de vipère Russell ou du venin lui-même, en présence de phospholipides (PL) et de calcium. Le test n'est pas sensible aux déficits en facteurs de la voie endogène. Les trousse commerciales sont nombreuses. Elles permettent de réaliser les tests de dépistage (en présence d'une faible concentration de PL) et les tests de confirmation (forte concentration de PL). Le second test de dépistage recommandé reste un TCA utilisant un réactif sensible au LA et un activateur à base de silice. Le TTD (temps de thromboplastine diluée) et le KCT (*kaolin clotting time*) ne doivent plus être utilisés du fait de leur manque de spécificité.

B) Quelles sont les techniques de dosages recommandées ?

Des recommandations « biologiques » concernant les conditions pré-analytiques (prélèvement, transport des échantillons, centrifugation, aliquotage, conservation), mais également les méthodes de dosages et les causes d'erreurs, ont été publiées parallèlement aux recomman-

datations cliniques (2) (Tableau III). Les recommandations « biologiques » concernant les conditions pré-analytiques des recherches de LA sont également décrites (3).

Test de résistance à la protéine C activée

Le principe repose sur la mesure du TCA en l'absence et en présence de PC activée, sur le plasma du patient dilué dans du plasma déficient en facteur V. Les résultats sont rendus, soit à l'aide du rapport des 2 TCA, soit à l'aide de ratio normalisé. Les zones de normalité doivent être définies pour chaque lot de réactif. Un résultat anormal devra entraîner une recherche de facteur V Leiden (mutation R506Q du gène du facteur V) par biologie moléculaire pour définir la nature homozygote ou hétérozygote de la mutation.

Recherche du facteur V Leiden et du polymorphisme 20210G>A du gène de la prothrombine

Les analyses de biologie moléculaire ne sont réalisées qu'avec le consentement écrit du patient. Le résultat est envoyé directement au prescripteur (règles précises du code de santé publique (J.O. du 23 juin 2000)). Le prescripteur doit informer le patient des résultats, et lui donner les conseils de prévention des thromboses.

Recherche d'anticoagulant circulant de type lupus

Selon les recommandations internationales, cinq étapes sont nécessaires au diagnostic de LA (4).

Tableau III - Dosages des inhibiteurs de la coagulation : antithrombine, protéine C, protéine S.

	Antithrombine	Protéine S	Protéine C
Méthode de dosage ^a	Activité cofacteur de l'héparine	Protéine S activée/Protéine S libre ^b	Activité anticoagulante
Valeurs normales	80 - 120 %	PS activée, % : H = 80 ; F < 50a = 52 ; F > 50a = 66 PS libre, % : H = 60 ; F < 50a = 50 ; F > 50a = 55	70 - 140 % augmentation avec l'âge
Interférences dans les dosages	Nouveaux anticoagulants ^c	Taux élevés de facteur VIII Traitements par HNF Présence d'anticoagulant circulant Facteur V Leiden Nouveaux anticoagulants ^c	Idem PS
Déficits acquis	Atteinte hépatique Traitement par HNF Traitement par L-asparaginase	Atteinte hépatique AVK Grossesse Œstroprogestatifs	Atteinte hépatique AVK
Types de déficits constitutionnels	Type I : quantitatif Type II : qualitatif IIRS (<i>reactive site</i>) : incapable de fixer la thrombine IIHBS (<i>heparin-binding site</i>) : incapable de fixer l'héparine IIPE (pléiotropique)	Type I : quantitatif (PS libre, activité et totale basses) Type II : qualitatif PS activité basse Type III : PS libre et PS activité basses ; PS totale normale	Type I : quantitatif Type II : qualitatif II AM : amidolytique II AC : activité anticoagulante

^a Méthode recommandée pour identifier tous les types de déficits.

^b Pour le dosage de la protéine S, la mesure de l'activité est préconisée en 1^{ère} intention car elle est susceptible de dépister tous les types de déficits ; les problèmes de spécificité qui lui ont fait longtemps préférer la mesure de la protéine S libre en 1^{ère} intention sont aujourd'hui largement atténués (2).

^c Rivaroxaban, dabigatran, ...

HNF : héparines non fractionnées ; AVK : antivitamines K.

1. Les échantillons plasmatiques doivent être soigneusement « déplaquetés » par double centrifugation (plaquettes résiduelles < 10 G/L dans les plasmas).

2. Le dépistage sera fait en utilisant deux tests de principe différent, sensibles (importance du choix du réactif, de la nature et de la concentration en PL). Les deux tests actuellement recommandés sont un TCA (activateur silice) utilisant un réactif sensible au LA et le dRVVT.

3. La mise en évidence d'un effet inhibiteur, caractérisé par un allongement du test de dépistage non corrigé par le mélange à parties égales de plasma du patient et de plasma normal d'origine lyophilisée ou congelée, mais préparé dans des conditions recommandées pour la recherche de LA.

4. La normalisation ou tendance à la normalisation des tests après ajout d'une forte concentration de PL (exemple : test de confirmation du dRVVT).

5. L'exclusion d'une autre coagulopathie. Les dosages des facteurs de la voie intrinsèque (TCA allongé) ou extrinsèque (taux de prothrombine diminué) sont normaux, éliminant la présence d'un inhibiteur spécifique dirigé contre un facteur de la coagulation. Il est souhaitable de réaliser un temps de thrombine, qui doit être normal.

Les interférences possibles à chacune de ces étapes ont été détaillées dans une revue récente (4).

VI. - COMMENT INTERPRÉTEZ-VOUS LES RÉSULTATS DE LA PATIENTE ?

Son test de résistance à la PC activée (ratio 1,54 ; normale supérieure à 2,1) est anormal. Il existe chez cette patiente un phénotype de résistance à la PC activée qui doit être confirmé, et qui doit faire rechercher le facteur V Leiden par biologie moléculaire pour définir la nature homozygote ou hétérozygote de la mutation. Le ratio

à 1,54 est plutôt en faveur d'un facteur V Leiden à l'état hétérozygote, les homozygotes ayant le plus souvent un ratio voisin de 1,3.

VII. - QUEL EST L'IMPACT DE LA MISE EN ÉVIDENCE DU FACTEUR V LEIDEN HÉTÉROZYGOTE SUR LA DURÉE DU TRAITEMENT ANTICOAGULANT ?

Selon les recommandations françaises de traitement de la MTEV (5), une durée minimale de 3 mois de traitement anticoagulant en cas de thrombose veineuse profonde proximale et/ou d'embolie pulmonaire est recommandée (grade A), quel que soit le contexte clinique.

Au-delà de 3 mois, le contexte clinique de survenue de l'événement thrombo-embolique veineux est le paramètre déterminant du risque de récurrence thrombo-embolique et de la durée du traitement anticoagulant (Tableau IV).

Seuls les FBR « majeurs » - déficit en antithrombine, facteur V Leiden ou mutation G20210A du gène de la prothrombine à l'état homozygote, présence et persistance d'antiphospholipides (syndrome des antiphospholipides) - ou des facteurs de risque multiples, peuvent faire proposer la prolongation du traitement anticoagulant.

La mutation du facteur V (facteur V Leiden) et celle du facteur II (mutation G20210A portant sur le gène de la prothrombine) à l'état hétérozygote sont fréquentes, et chacune d'entre elle confère un risque modéré de développer un premier épisode de MTEV (OR [odd ratio] de 3 environ pour la mutation G20210A et de 4 à 6 pour le facteur V Leiden). Toutes les études randomisées contrôlées, et la majorité des études prospectives et rétrospectives de cohortes portant sur de larges effectifs, ne mettent pas en évidence d'association entre ces mutations et un risque accru de récurrence thrombo-embolique.

Tableau IV - Durée du traitement anticoagulant d'une TVP proximale (recommandations Afssaps 2009) (5).

	Facteur favorisant	Risque annuel de récurrence ^a	Durée de traitement ^b	Grade
MTEV avec facteur déclenchant majeur transitoire	Chirurgie Immobilisation > 3 jours Fracture des membres inférieurs dans les 3 derniers mois	Faible (3 %)	3 mois	Grade A
MTEV avec facteur de risque persistant majeur	Cancer en cours de traitement Syndrome des antiphospholipides	Élevé (9 %)	≥ 6 mois ^c	Accord professionnel
MTEV « idiopathique »	Absence de facteur déclenchant majeur Absence de facteur de risque persistant majeur	Élevé (9 %)	≥ 6 mois	Grade B

^a Après arrêt d'un traitement de 3 mois.

^b En dehors du contexte clinique décrit ici, d'autres facteurs, dont l'influence sur le risque thromboembolique est faible ou mal démontrée (voyage au long cours...), peuvent contribuer à moduler la durée optimale de traitement anticoagulant (accord professionnel).

^c Le traitement doit être prolongé tant que le facteur de risque persiste.

La présence du facteur V Leiden à l'état hétérozygote n'a pas d'impact sur la durée du traitement chez notre patiente. Cette patiente a reçu un traitement anticoagulant pendant 6 mois. Son antécédent de thrombose veineuse proximale associé à la présence de la mutation du facteur V Leiden à l'état hétérozygote font recommander une prévention des thromboses veineuses lors des prochaines situations à risque thrombo-embolique, médicales, chirurgicales et lors des prochains voyages en avion de plus de 8 heures.

VIII. - PROPOSEZ-VOUS UNE ENQUÊTE FAMILIALE ?

Chez les porteurs de déficits en inhibiteurs physiologiques de la coagulation (antithrombine, PC et PS) dont le risque thromboembolique est élevé, l'enquête familiale est recommandée, ainsi que dans les polymorphismes multiples de type homozygotie pour le facteur V Leiden ou la mutation FIIG20210A du gène de la prothrombine, et chez les doubles hétérozygotes (grade C). Le FBR mis en évidence chez le cas index sera recherché en première intention chez les apparentés, et si le FBR est identifié chez l'apparenté, une étude plus complète sera réalisée lors du contrôle à la recherche d'éventuels déficits combinés.

En revanche, les avis sont divergents concernant l'utilité d'une étude familiale en cas de facteur V Leiden ou de mutation FIIG20210A hétérozygote. De nombreuses études cas-témoins ont été effectuées pour déterminer le risque annuel de MTEV chez les apparentés de cas index porteurs du facteur V Leiden. L'incidence annuelle absolue de MTEV reste faible : 0,066 % chez les apparentés sans facteur V Leiden ni FIIG20210A [0,03–0,1 %] ; 0,19 % chez les apparentés facteur V Leiden hétérozygote [0,1–

0,2 %] ; 0,13 % chez les apparentés avec FIIG20210A hétérozygote [0,06–0,2 %] ; 0,42 % chez les apparentés avec les deux mutations hétérozygotes [0,1–0,8 %]. Ce risque faible fait discuter l'intérêt de cette étude familiale systématique, en recommandant toutefois cette recherche aux familles présentant une fréquence inhabituelle de MTEV chez les sujets jeunes.

En cas de diagnostic de facteur V Leiden ou de mutation FIIG20210A à l'état hétérozygote, les recommandations françaises sont de n'envisager l'étude familiale qu'aux femmes en âge de procréer, et après information claire sur les conséquences éventuelles (contraception, grossesse, etc.) (grade C). Cette recherche sera réalisée en priorité chez les jeunes sœurs de notre patiente. La recherche n'est réalisée dans tous les cas qu'à un âge supérieur à 15 ans, ou avant la mise en route d'une contraception.

IX. - QUELLE CONTRACEPTION EN PRÉSENCE D'UN FBR DE THROMBOSE ET/OU D'ANTÉCÉDENTS FAMILIAUX DE MTEV ?

Les contraceptions combinées œstroprogestatives, quels que soient le type et la dose d'œstrogènes, ou encore la voie d'administration (orale, patch ou anneau vaginal), sont déconseillées chez ces patientes (6, 7). Les contraceptions à base de progestatifs seuls (sans œstrogènes associés) peuvent être utilisées, qu'elles soient microprogestatives ou macroprogestatives. La contraception par implant progestatif peut aussi être envisagée. Les contraceptions par dispositifs intra-utérins (au cuivre, ou bioactif délivrant de petites doses de lévonorgestrel en intra-utérin) ne sont pas contre-indiquées.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Pernod G *et al.* Recommandations pour la recherche de facteurs biologiques de risque dans le cadre de la maladie thromboembolique veineuse. *Sang Thrombose Vaisseaux* 2009 ; **21** (n° spécial) : 5-11.
- (2) Alhenc Gelas M *et al.* La recherche des facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse : état des connaissances et conséquence pour la pratique en biologie clinique. *Sang Thrombose Vaisseaux* 2009 ; **21** (n° spécial) : 12-39.
- (3) Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, *et al.* Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on lupus anticoagulant/antiphospholipid antibody of the scientific and standardisation committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost* 2009 ; **7** : 1737-40.
- (4) Visseaux B, Masliah-Planchon J, Fischer A-M, Darnige L. Diagnostic du syndrome des antiphospholipides : actualités. *Ann Biol Clin* 2011 ; **69** (4) : 411-8.
- (5) Prévention et traitement de la maladie thromboembolique veineuse en médecine. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Novembre 2009.
- (6) Plu-Bureau G, Horellou MH, Gompel A, Conard J. Hormonal contraception and risk of venous thromboembolism: when to ask for an assessment of hemostasis? Which parameters? *Gyn Obst Fert* 2008 ; **36** (4) : 448-54.
- (7) Trenor CC, Chung RJ, Michelson AD, Neufeld EJ, Gordon CM, Laufer MR, Emans SJ. Hormonal contraception and thrombotic risk: a multidisciplinary approach. *Pediatrics* 2011 ; **127** : 347-57.