

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2023

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Caractéristiques clinico-biologiques des patients atteints d'un
Purpura Thrombotique Thrombocytopénique acquis sans
identification de l'anticorps anti ADAMTS13 par technique ELISA
mais associé à un test d'inhibition positif.**

Présentée et soutenue publiquement le 22 septembre à 14 heures
Au Pôle Recherche
Par Cheymaa TALEB OUALLAL

JURY

Président :

Madame la Professeure Sophie SUSEN

Assesseurs :

Madame la Professeure Annabelle DUPONT

Monsieur le Docteur François PROVOT

Directeur de thèse :

Madame le Docteur Anne BAUTERS

Laboratoire d'hémostase CHU de Lille

AVERTISSEMENT

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADAMTS13: **A** Disintegrin **A**nd **M**etalloprotease with **T**hrombo**S**pondin type 1 repeats, member **13**

AVC : Accident vasculaire cérébral

CBP : Centre Biologie Pathologie

CH : Centre Hospitalier

CHU : Centre hospitalier universitaire

ELISA : Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (méthode immuno-enzymatique)

FRET : Fluorescence Resonance Energy Transfer

HELLP : Syndrome d'Hémolyse, de Cytolyse hépatique et thrombopénie

« *Hemolysis, Elevated Liver enzyme, Low Platelets* »

HPM : Haut poids moléculaire

MAT : Microangiopathies thrombotiques

NEG : Négatif

PEC : prise en charge

PFC : Plasma frais congelé

PTTa : Purpura thrombotique thrombocytopénie acquis

PTTc : Purpura thrombotique thrombocytopénie congénital

SUS : Syndrome Upshaw - Schulman

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VWF : Facteur Von Willebrand

TABLES DES MATIÈRES

LISTE DES ABREVIATIONS	4
TABLES DES MATIÈRES.....	5
RÉSUMÉ.....	7
1 INTRODUCTION	9
1.1 GÉNÉRALITÉS	9
1.1.1 Définition du PTT	9
1.1.2 Structure et fonction de l'ADAMTS13	9
1.1.2.1 Structure de l'ADAMTS13	9
1.1.2.2 Relation structure-Fonction de l'ADAMTS13.....	10
1.1.2.3 Régulation de l'activité de l'ADAMTS13	14
1.1.2.4 Conformation de l'ADAMTS13.....	14
1.1.2.5 Variante ADAMTS13 résistante aux anticorps.....	16
1.1.3 Structure et fonction du VWF.....	16
1.1.4 Mécanisme physiopathologique.....	17
1.1.4.1 Le PTT constitutionnel	20
1.1.4.2 PTT acquis.....	23
1.1.4.3 PTT au cours de la grossesse.....	25
1.1.5 Épidémiologie	26
1.2 Diagnostic	27
1.2.1 Diagnostic clinique.....	27
1.2.1.1 Symptomatologie.....	27
1.2.1.2 Scores.....	28
1.2.2 Diagnostics biologiques	31
1.2.2.1 Paramètres biologiques	31
1.2.2.2 Mesure de l'activité de l'ADAMTS 13	32
1.2.2.3 Recherche et titrage des anticorps anti-ADAMTS13	35
1.2.2.4 Recherche de mutation du gène de l'ADAMTS13.....	37
1.2.3 Diagnostic différentiel	38
1.3 Prise en charge thérapeutique	40
1.3.1 PTT acquis.....	40
1.3.1.1 Échanges plasmatiques.....	40

1.3.1.2	Traitement immunosupresseurs.....	40
1.3.2	PTT congénital	43
1.3.3	Évolution d'un PTTa	43
1.3.4	Suivi des patients atteints de PTT	45
2	OBJECTIFS	47
3	MÉTHODES	48
4	RÉSULTATS.....	49
5	DISCUSSION	76
	LISTE DES FIGURES.....	80
	LISTE DES TABLEAUX.....	81
	BIBLIOGRAPHIE.....	82

RÉSUMÉ

Contexte : Le diagnostic d'un Purpura Thrombotique Thrombocytopénique acquis (PTTa) repose sur un dosage effondré (<10%) de l'activité de l'ADAMTS13 (**A** Disintegrin **A**nd **M**etalloprotease with **T**hrombo**S**pondin type 1 repeats, member **13**) associé à la présence d'un AC anti-ADAMTS13. Ces Ac sont soit des Ac inhibiteurs, soit des Ac qui augmentent la clairance de l'ADAMTS13. La recherche de cet Ac peut se faire soit par technique ELISA qui détecte les IgG polyclonales anti ADAMTS13, soit par technique d'inhibition qui mesure l'activité inhibitrice du plasma du patient. Si les Ac sont inhibiteurs ils sont alors également détectés par technique ELISA. Dans la cohorte lilloise des PTTa, nous avons une troisième catégorie de patients, caractérisée par une activité ADAMTS 13 effondrée, sans Ac détectés par la technique ELISA, mais associée à un test d'inhibition positive. Au cours de ce travail, nous avons repris les dossiers de ces patients (ADAMTS13 effondrée, ELISA négatif, Test d'inhibition positif) afin de détailler les circonstances d'apparition de la maladie, l'évolution au cours du traitement et les modes de rechutes.

Méthode : Le laboratoire d'hémostase du CHU de Lille réalise les analyses diagnostiques de PTT pour la région des hauts de France. Nous avons repris les diagnostics de PTTa réalisés entre 1992 et 2022, afin d'identifier les patients présentant un PTTa caractérisé au diagnostic par un test d'inhibition positif sans détection de l'anticorps par technique ELISA. L'ensemble des données cliniques, biologiques, les traitements reçus, l'évolution du PTT et le profil de rechute ont été analysés.

Résultats : Entre 1992 et 2022, 74 patients ont présenté un PTTa. Pour 12 patients (16.2%), le caractère acquis du PTT a été identifié en raison d'un test d'inhibition positif et en l'absence d'Ac détectés par le test ELISA. La médiane d'âge de survenue du PTT était de 36,5 ans (29-53). Deux patients sont décédés des conséquences du PTT. Le délai médian de suivi est de 4.5 ans (3-12).

L'épidémiologie, l'évolution clinique, et les conséquences de la maladie pour cette population semblent conformes aux données de la littérature.

Notre technique d'inhibition présente donc un intérêt indiscutable lorsque les Ac anti ADAMTS13 ne sont pas détectés par la technique ELISA

Conclusion : Nous avons donc observé dans la cohorte lilloise de 74 PTTa, 12 patients présentant un test d'inhibition positif sans Ac détectés par technique ELISA. L'origine de cette discordance n'est pas connue, et pourrait être expliquée par l'absence de fixation de l'Ac anti ADAMTS13 du patient sur l'ADAMTS13 du kit ELISA, ou à l'isotype de cet Ac. Les patients présentant un tel profil le conservent au cours des rechutes ; le maintien de cette technique d'analyse au laboratoire est donc justifié.

1 INTRODUCTION

1.1 GÉNÉRALITÉS

1.1.1 Définition du PTT

Le Purpura Thrombotique Thrombocytopénique (PTT) est une variante spécifique des microangiopathies thrombotiques (MAT) qui se caractérise par une thrombopénie sévère et des atteintes de plusieurs organes, en particulier le cerveau et le cœur. Le PTT est une maladie rare provoquée par un déficit marqué en ADAMTS13 (A Disintegrin And Metalloprotease with ThromboSpondin type 1 répétitions, member 13), une enzyme essentielle dans la régulation de la taille des multimères plasmatiques du facteur Willebrand (VWF). Ce déficit peut être de nature constitutionnelle, résultant de mutations bi-alléliques du gène ADAMTS13, ou de nature auto-immune, lié à la présence d'anticorps anti-ADAMTS13 (1).

1.1.2 Structure et fonction de l'ADAMTS13

1.1.2.1 Structure de l'ADAMTS13

L'ADAMTS13 a été identifiée en 1998 (1) et clonée en 2001(2). L'ADAMTS13 est une métalloprotéase dont la séquence est codée par le gène *ADAMTS13*, situé sur le chromosome 9 en position 9q34.2. Il est composé de 29 exons, pour une taille de 37 kb, qui sont transcrits en un ARNm de 4,6 kb. L'ADAMTS13 est synthétisée dans

le foie, notamment dans les cellules stellaires, également connues sous le nom de cellules de Ito (3). Il est également produit dans les cellules tubulaires et les podocytes rénaux, les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. L'ADAMTS13 est initialement synthétisé sous forme de pré-pro-protéine de 1427 acides aminés, comprenant un signal peptidique de 33 acides aminés et un propeptide de 41 acides aminés. (4). Sous sa forme mature, l'ADAMTS13 est une glycoprotéine monocaténaire d'une masse moléculaire de 190 kDa et composée de 1353 acides aminés.

La protéase partage une structure de domaine similaire à celle des autres protéases de la famille ADAMTS, comprenant un peptide signal, un propeptide, une métalloprotéase, un domaine de type désintégrine, la première répétition de thrombospondine de type 1 (TSP1), des domaines riches en Cys et des domaines espaceurs. L'extrémité C-terminale la plus distale contient sept répétitions TSP1 supplémentaires et deux domaines CUB (5).

1.1.2.2 Relation structure-Fonction de l'ADAMTS13

L'ADAMTS13 clive une seule liaison peptidique (Tyr (1605) -Met (1606)) dans le domaine A2 central de la molécule VWF. Ce clivage protéolytique est essentiel pour réduire la taille des multimères de haut poids moléculaire du VWF qui, lorsqu'ils sont exposés à une contrainte de cisaillement élevée dans la microcirculation, sont susceptibles de fixer les plaquettes pour former des amas, qui provoquent des microangiopathies thrombotiques (MAT).(6)

Il existe une relation structure fonction de la protéase :

L'interaction des exosites semble régir l'activité enzymatique et la spécificité du substrat. Le domaine M de la métalloprotéase ADAMTS13 seul n'a pas ou peu d'activité protéolytique envers les substrats du VWF. L'activité protéolytique augmente à mesure que de plus en plus de domaines non catalytiques sont ajoutés séquentiellement au domaine métalloprotéase (M) (7), tel que le domaine de type désintégrine (D). Ces deux domaines (M et D) semblent être une unité fonctionnelle inséparable (8).

Les données expérimentales montrent également que l'ajout du domaine de type désintégrine au domaine de la métalloprotéase augmente de manière significative l'efficacité et la spécificité du clivage. Pour preuves, les variantes ADAMTS13 dépourvues du domaine de type désintégrine ou portant des mutations ponctuelles dans les régions variables du domaine de type désintégrine (Arg349Ala et Leu350Gly) ont une activité protéolytique réduite vis-à-vis des substrats peptidiques et des multimères du VWF, ce qui suggère l'importance du domaine de type désintégrine dans la reconnaissance du substrat (9).

En effet, des études montrent que les résidus Arg349 et Leu350 du domaine D (désintégrine) ADAMTS13 peuvent interagir avec les résidus Asp1614 et Ala1612 dans le domaine A2 central du VWF. De telles interactions semblent aider à positionner la liaison Tyr1605-Met1606 dans la fente du site actif (5).

Plus récemment, Xiang *et al* ont démontré que les domaines du VWF Leu1603 (P3) Tyr1605 et Asp1614 semblent entrer en contact direct avec les domaines Leu198, Val195 et Arg349 de l' ADAMTS13, respectivement (10). Par conséquent, le domaine désintégrine, travaillant de concert avec d'autres domaines non

catalytiques, garantit que la liaison scissile est amenée en position sur le centre actif pour que le clivage se produise (5).

Les domaines riches en Cystéine (Cys) et les domaines espaceurs de l'ADAMTS13 interviennent dans la reconnaissance du substrat (11). En effet, les variants ADAMTS13 dépourvus à la fois des domaines riches en Cys et espaceur ou du domaine espaceur seul ne présentent qu'une activité minimale vis-à-vis des substrats peptidiques, mais n'ont pratiquement aucune activité vis-à-vis des multimères de haut poids moléculaire du VWF liés aux cellules (12) (5).

Une analyse des séquences des domaines espaceurs d'ADAMTS13 et d'autres protéases de la famille ADAMTS a permis d'identifier plusieurs exosites potentiels qui sont hautement conservés dans l'ADAMTS13 humain, murin et le poisson zèbre, mais absents chez les autres membres de la famille ADAMTS (13).

L'un de ces exosites, également décrit comme l'exosite 3, comprend les résidus d'acides aminés Tyr658, Arg659, Arg660, Tyr661 et Tyr665 (en conjonction avec deux résidus environnants Arg568 et Phe592 (cf. fig. 1) (14). Une suppression des résidus Arg659-Glu664 ou une substitution des résidus Arg659, Arg660 et Tyr661 par l'alanine réduit considérablement le clivage protéolytique de divers substrats du VWF (15).

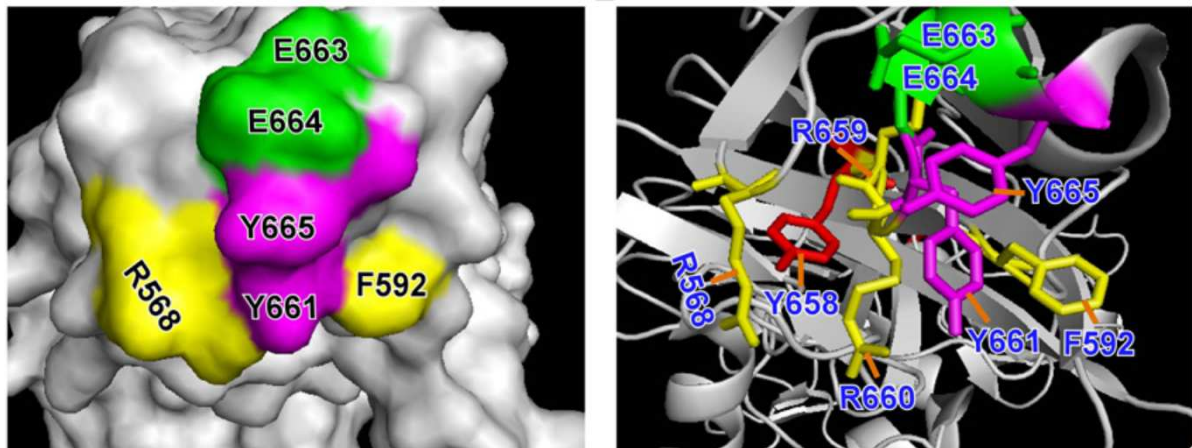


Figure 1 : **domaines espaceurs d'ADAMTS13 et d'autres protéases ADAMTS (5)**

Les protéases ADAMTS ont un nombre variable de répétitions TSP1 (T1-T8) qui peuvent jouer un rôle dans la localisation cellulaire et la reconnaissance du substrat (16).

Les répétitions T5–T8 d'ADAMTS13 semblent se lier au VWF natif via le domaine D4 (17). De plus, il a été démontré que les répétitions T - C-terminales de l'ADAMTS13 interagissent avec le récepteur de surface des cellules endothéliales CD36 (18), et une telle interaction peut améliorer le clivage protéolytique des multimère de haut poids moléculaire du VWF dans des conditions de flux (19).

Trois régions de liaison dans les domaines distaux, CUB1, CUB2 et T8 sont responsables de la flexibilité et permettent l'interaction avec les domaines distaux du VWF (20).

Asn1235 et Asn1354 des domaines ADAMTS13 CUB sont N-glycosylés. La substitution de ces résidus par la glutamine augmente l'efficacité protéolytique du clivage FRETTS-VWF73 (21). Il a été émise l'hypothèse que l'absence de glycanes du domaine CUB permet à l'ADAMTS13 d'adapter une conformation ouverte et active (22).

1.1.2.3 Régulation de l'activité de l'ADAMTS13

Contrairement à d'autres facteurs de coagulation qui sont synthétisés sous forme de zymogènes inactifs, ADAMTS13 est sécrétée sous forme de protéase constitutivement active (23). Les inhibiteurs tissulaires connus des métalloprotéinases (TIMP-1, -2, -3, -4) n'inhibent pas l'activité ADAMTS13 (24). En fait, les inhibiteurs ou activateurs/cofacteurs naturels pour ADAMTS13 n'ont pas été décrits. Aucun inhibiteur n'a été identifié à ce jour.

L' α 2 macroglobuline plasmatique inhibe de nombreuses autres métalloprotéases matricielles, notamment ADAMTS 4, 5, 7 et 12 mais ne semble pas se lier et affecter l'activité ADAMTS13 envers le VWF (25). Par conséquent, la fonction ADAMTS13 doit être régulée au niveau du substrat.

1.1.2.4 Conformation de l'ADAMTS13

Lors de la liaison au VWF, l'ADAMTS13 adopte une conformation « ouverte » (cf. Fig. 2) transitoire qui permet à plusieurs exosites dans les domaines de la protéase, de la désintégrine, de la cystéine (riche en Cys) et de l'espaceur d'interagir avec des sites complémentaires dans le domaine A2 du VWF.

Récemment, il a été montré que l'ADAMTS13 circule dans une conformation "ouverte" pendant la phase aiguë du PTTa et pendant la maladie subclinique en rémission suggérant qu'une conformation "ouverte" de l'ADAMTS13 est liée à l'apparition et à la récurrence de l'auto-immunité chez ces patients (27) (28). De plus, dans le PTTa, les changements conformationnels de l'ADAMTS13 sont observés plus tôt que les titres détectables d'auto-anticorps anti-ADAMTS13 lors d'un épisode aigu de PTTa (28). La conformation ouverte de l'ADAMTS13 semble être un

indicateur de la phase aiguë du PTT, tandis qu'une forme d'ADAMTS13 en conformation fermée serait liée à la période de rémission.

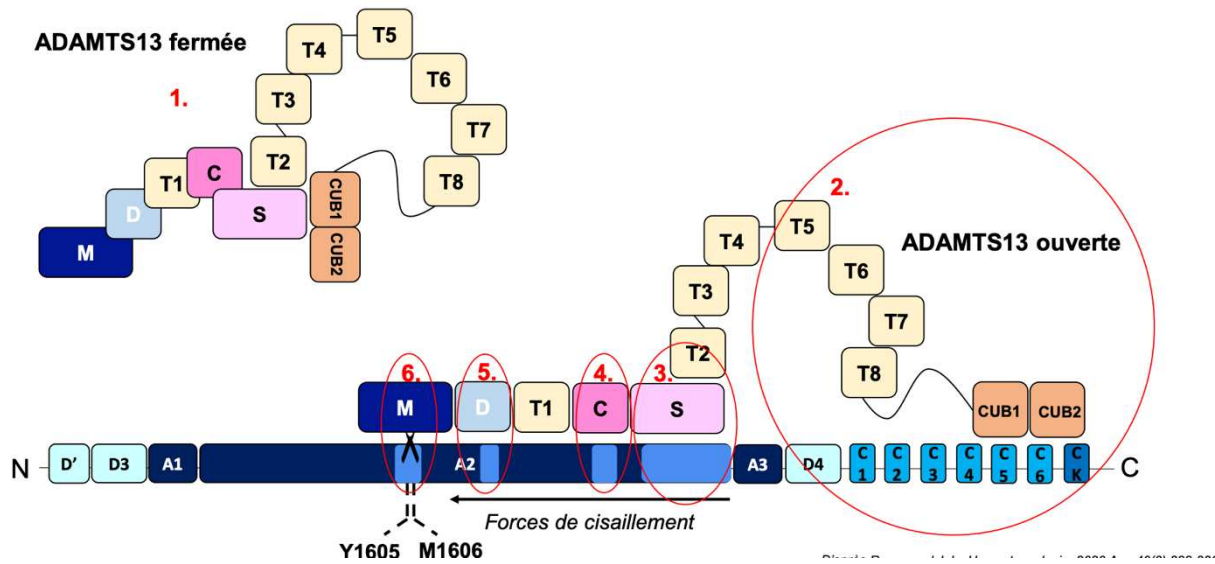


Figure 2: Conformation de l'ADAMTS13 (29)

M=Métalloprotéase, *D*= Désintégrine, *T*= Thrombospondine, *S*= Spacer, *C*= cystéine.

1.1.2.5 Variante ADAMTS13 résistante aux anticorps

De manière très intéressante, la plupart des auto-anticorps inhibiteurs anti-ADAMTS13 sont dirigés contre le domaine S, bien que chez de nombreux patients, des auto-anticorps anti-ADAMTS13 avec des épitopes dans d'autres domaines ADAMTS13 soient également présents. Les auto-anticorps anti-domaine S de l'ADAMTS13 interfèrent avec la liaison de l'ADAMTS13 au domaine VWF A2 déplié, entraînant une forte inhibition de l'activité ADAMTS13. Une variante d'exosite du domaine S de l'ADAMTS13 avec 5 substitutions d'acides aminés, Arg568Lys, Phe592Tyr, Arg660Lys, Tyr661Phe et Tyr665Phe, a montré une résistance contre la fonction inhibitrice des auto-anticorps des patients PTTa et a exprimé une activité protéolytique encore plus élevée (mutation gain de fonction). Pour une utilisation thérapeutique d'ADAMTS13 les variants ADAMTS13 résistants aux auto-anticorps apparaissent prometteur (30).

1.1.3 Structure et fonction du VWF

Les multimères VWF sont composés de sous-unités identiques qui sont liées entre elles par des liaisons disulfures. Chaque sous-unité se compose de plusieurs types de domaines structuraux répétés et possède des sites de liaison pour les composants du tissu conjonctif, tels que le collagène, ainsi que pour les glycoprotéines de la membrane plaquettaire, le facteur VIII et ADAMTS13 (cf. Fig. 3) (31).

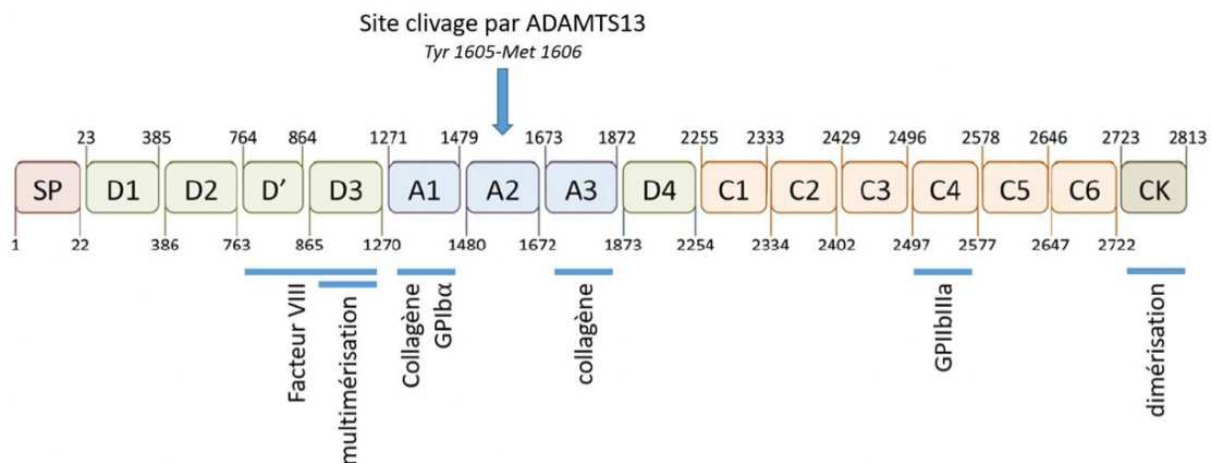


Figure 3: **Structure de VWF (32)**

Le VWF est stocké dans des granules de cellules endothéliales appelées corps de Weibel-Palade (33), qui fusionnent avec la membrane cellulaire pour libérer des multimères de VWF de haut poids moléculaire (34). La capacité du VWF à se lier aux plaquettes en circulation dépend essentiellement de sa taille multimérique, les plus grands multimères étant les plus affins vis-à-vis des plaquettes au cours de l'hémostase primaire (26).

1.1.4 Mécanisme physiopathologique

Le VWF est sécrété par les cellules endothéliales sous forme de multimères de haut poids moléculaire, et l'ADAMTS13 réduit progressivement la taille de ces multimères de VWF à mesure qu'ils circulent dans le sang. Dans des conditions de faible cisaillement, les multimères VWF adoptent une forme condensée enroulée de manière lâche en raison de faibles interactions entre les monomères VWF (cf. Fig. 4) (35). À partir d'un taux de cisaillement critique, les multimères VWF s'étendent dans la direction du flux et subissent une force de traction.

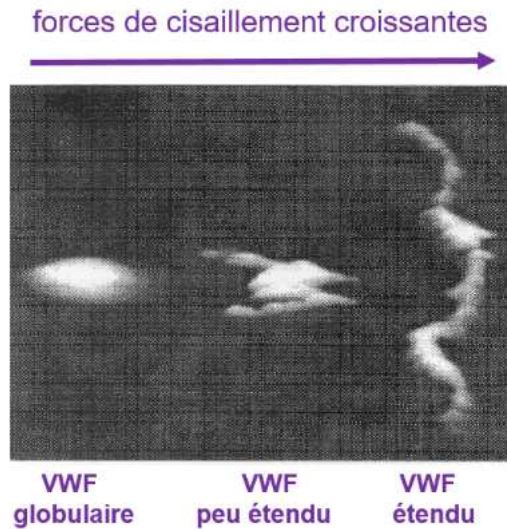


Figure 4: **Modèle schématique illustrant les modifications conformationnelles du VWF induites en condition de forces de cisaillement élevées (36)**

Plus le multimère est long, plus la force est grande, ce qui peut être suffisant pour déplier le domaine VWF A2 et exposer une liaison cryptique Tyr-Met que l'ADAMTS13 reconnaît et clive (cf. Fig. 5).

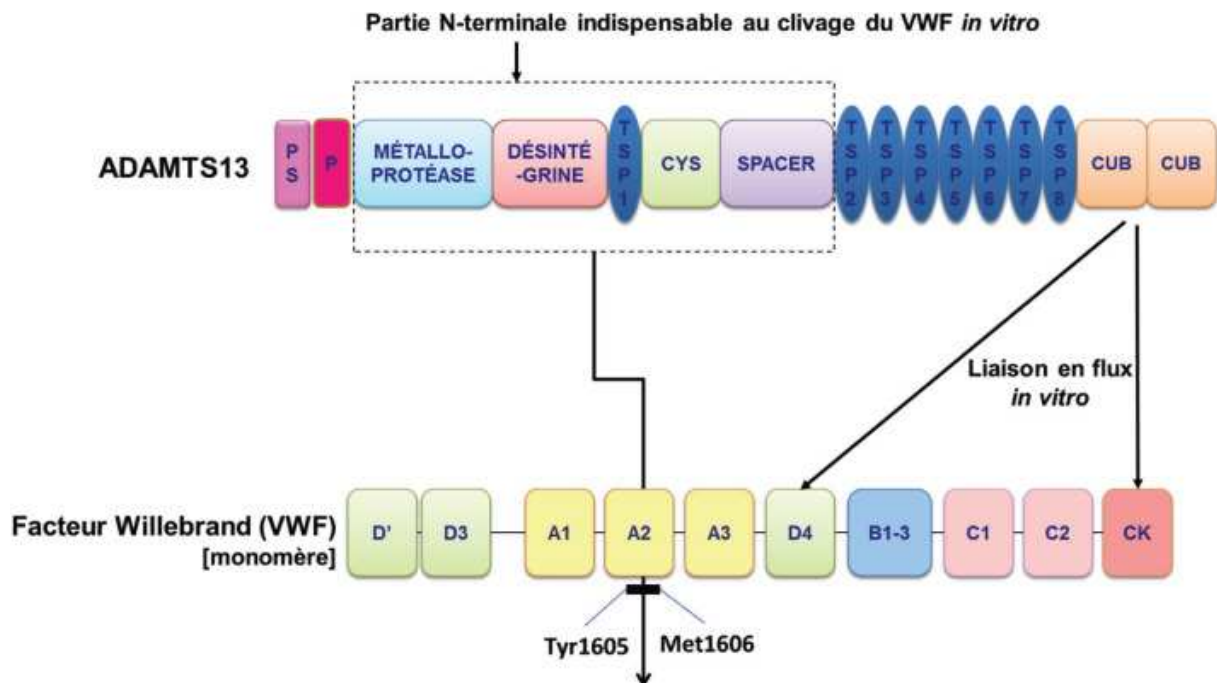


Figure 5: **Site de clivage du VWF par l'ADAMTS13 (37)**

Les multimères VWF peuvent lier les plaquettes sur la surface des cellules endothéliales ou sur les sites de lésions vasculaires.

En l'absence d'ADAMTS13, les multimères libérées par l'endothélium s'accumulent, ce qui entraîne la formation spontanée de microthrombi dans les capillaires et les artérioles de la microcirculation. Ces microthrombi conduisent à la consommation des plaquettes, ce qui explique la thrombopénie. De plus, ces microthrombi sont responsables d'une ischémie et d'une souffrance viscérale disséminée, à l'origine du tableau clinique caractéristique du PTT. Parallèlement, les globules rouges subissent une fragmentation lorsqu'ils entrent en contact avec ces microthrombi, ce qui entraîne leur destruction et explique l'hémolyse intravasculaire (3) et la présence de schizocytes (cf.Fig.6).

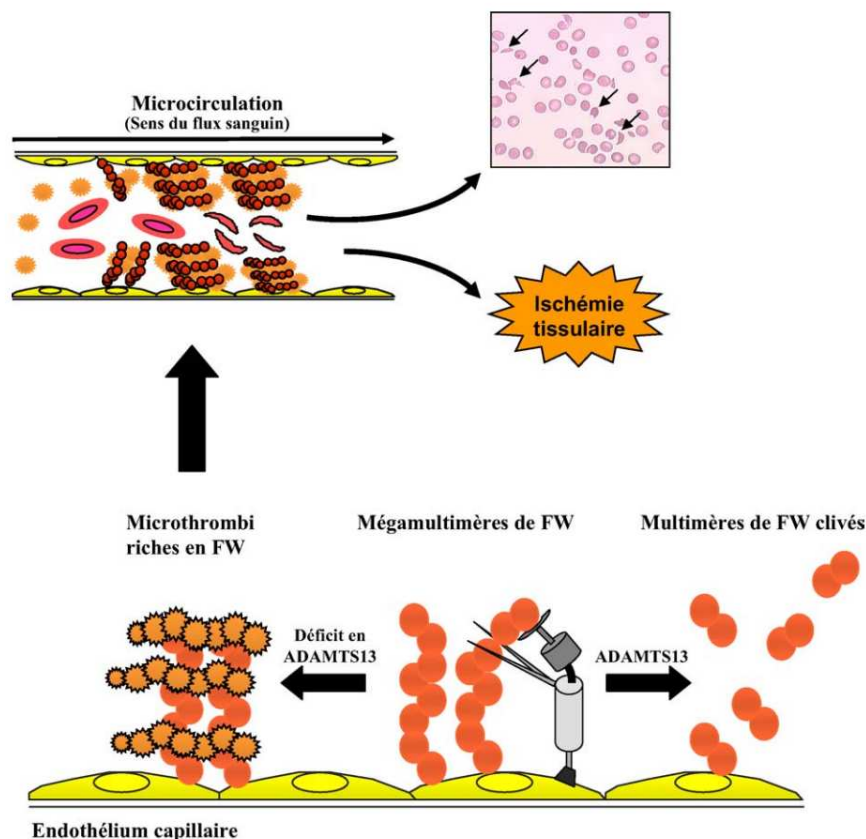


Figure 6: **Mécanismes physiopathologiques aboutissant à la formation de microthrombi dans le PTT (38)**

Le déficit sévère en ADAMTS13 est expliqué par deux mécanismes : soit congénital (10% des cas), soit acquis lié, dans 75% des cas à des autoanticorps dirigés contre ADAMTS13 et qui correspond aux formes de l'adulte.

1.1.4.1 Le PTT constitutionnel

La première manifestation du PTTc survient généralement avant l'âge de 10 ans, et dans plus de 50% des cas, dès la naissance. Il s'agit d'un mécanisme rare, observé chez environ 10% des patients atteints de PTT, dont un tiers révèle la maladie durant l'enfance. Cette forme est liée à un déficit sévère en ADAMTS13 d'origine constitutionnelle, résultant de mutations bi-alléliques sur le gène ADAMTS13.

Connue sous le nom de Syndrome Upshaw Schulman (SUS), elle est transmise selon un mode autosomique récessif. Les patients atteints sont soit homozygotes, soit hétérozygotes composites. Le gène *ADAMTS13* présente plus de 200 mutations répertoriées (cf. Fig. 7) principalement localisées dans la région N-terminale. Environ 60% de ces mutations sont des mutations faux-sens, tandis que les 40% restants sont des mutations non-sens, des délétions ou des décalages du cadre de lecture. Parmi ces mutations, 70% entraînent la création de codons faux-sens, tandis que 30% provoquent la production de protéines tronquées. Jusqu'à présent, aucune suppression complète du gène ADAMTS13 n'a été signalée. (39)

L'analyse des protéines ADAMTS13 mutées a révélé que la plupart des mutations sur le gène ADAMTS13 sont responsables d'un déficit quantitatif, tandis que le dysfonctionnement est moins fréquent. Cependant, la majorité des mutations identifiées n'ont pas encore été caractérisées sur le plan fonctionnel (39). Chez les individus hétérozygotes porteurs de mutations ADAMTS13, ces mutations ne sont

généralement pas symptomatiques du point de vue clinique, bien qu'elles puissent s'accompagner d'une activité ADAMTS13 normale ou partiellement réduite (40).

La pénétrance clinique des mutations ADAMTS13 varie d'un cas à l'autre. Les mutations observées chez les patients atteints de PTT congénital révélées en pédiatrie diffèrent de celles identifiées chez les patients atteints de PTT congénital manifesté à l'âge adulte. À la fin de l'année 2017, le registre français comptabilisait 34 cas de PTT constitutionnelles révélés pendant l'enfance et 22 cas de PTT constitutionnelles révélées pendant la grossesse, soit un total de 56 patients issus de 51 familles. Dans 65% des cas, les mutations étaient hétérozygotes composites, plus fréquemment chez les adultes (65%) que chez les enfants (43%). Notamment, la mutation p. Arg1060Trp était enregistré chez 82% des patients adultes atteints de PTT constitutionnel. Les variations de séquences dans ADAMTS13 ont un impact sur sa conformation. (37) (41)

Le niveau résiduel d'activité ADAMTS13 ne semble pas être strictement lié à l'âge au moment du diagnostic. Par exemple, bien que 40% des patients atteints de SUS avec une activité ADAMTS13 <1% présentent les premiers symptômes dès la période néonatale, 20% d'entre eux semblent développer des symptômes après l'âge de 20 ans.

Il est reconnu que certains facteurs favorisants, tels que le sepsis, une consommation excessive d'alcool ou la grossesse, peuvent contribuer à déclencher une poussée de PTT chez les patients atteints du SUS.

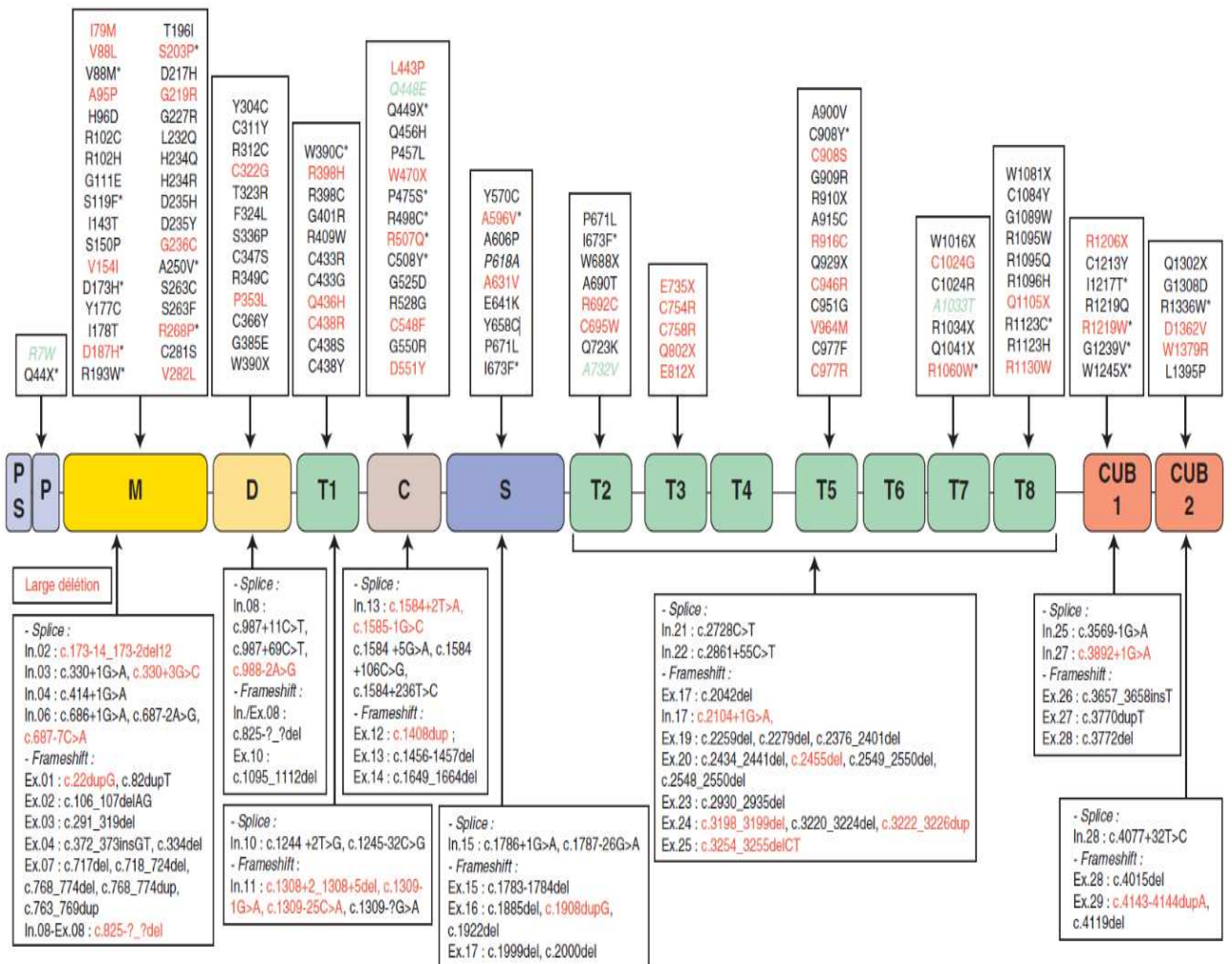


Figure 7: Syndrome d'Upshaw-Schulman : répartition des mutations du gène d'ADAMTS13

1.1.4.2 PTT acquis

1.1.4.2.1 Autoanticorps anti-ADAMTS13

Le PTT auto-immun chez l'adulte est causé par un déficit sévère de l'activité plasmatique ADAMTS13 dû à des anticorps de type immunoglobuline G (IgG). Selon les dosages, les anticorps sont détectés chez 80% des patients atteints de PTT acquis avec un déficit sévère de l'activité ADAMTS13 plasmatique (42). Les anticorps inhibiteurs représentent 90% de ces anticorps détectables et les 10% restants sont représentés par les anticorps augmentant la clairance dit anticorps neutralisant. Dans 20% des cas de PTT acquis, des anticorps anti-ADAMTS-13 ne sont pas détectables (même si l'activité d'ADAMTS13 est restaurée en phase de rémission), suggérant d'autres mécanismes responsables du déficit en ADAMTS13 (39). Les tests immuno-enzymatiques (ELISA) permettent de détecter les IgG anti-ADAMTS13 chez la majorité des patients atteint de PTTa (16).

La cartographie et le profilage des anticorps révèlent que les IgG1 et IgG4 anti-ADAMTS13 prédominent dans le plasma des patients atteints de PTT acquis (43) et presque toutes les IgG anti-ADAMTS13 se lient aux domaines riche en Cys, en particulier le domaine espaceur (S) (15). D'autres domaines ADAMTS13, notamment le propeptide (P), le domaine métalloprotéase(M), le domaine désintégrine, la première répétition TSP1 (T1), les répétitions TSP1 plus distales et les domaines CUB sont moins réactifs vis-à-vis des auto-anticorps (15) (cf. Fig. 8)



Figure 8: Répartition des anticorps sur les différents domaines de l'ADAMTS13

Une analyse plus approfondie démontre que les principaux épitopes antigéniques sont localisés sur les résidus Tyr572-Asn579 , Val657-Gly666 et Gly662-Val687 (44). Chez une majorité de patients PTT (90%) la réactivité de l'ADAMTS13 est perdue à la suite de la substitution des résidus Arg568, Phe592, Arg660, Tyr661 et Tyr665 dans l'exosite 3 du domaine espaceur (cf. fig. 15). Il a été démontré que ces résidus jouent un rôle essentiel dans la reconnaissance du substrat et la protéolyse du VWF dans diverses conditions (13). Par conséquent, il est concevable que la liaison des auto-anticorps anti-ADAMTS13 à cette région bloque la liaison au substrat et sa fonction protéolytique.

1.1.4.2.2 Facteurs de risques

Des facteurs de risques au PTTa sont identifiés dans 50% des cas. On y retrouve les maladies auto-immunes (lupus érythémateux systémique ou un syndrome de Sjögren), la grossesse, une infection par le VIH ou un cancer. D'authentiques PTT auto-immuns ont également été rapportés suite à l'utilisation de certains médicaments (antiagrégants plaquettaires, d'immunomodulateurs et anti-cancéreux ...). Dans la

forme auto-immune le PTT survient plus fréquemment chez la femme avec un ratio de 3 femmes pour 1 homme, pour un âge d'environ 40 ans.

Il existe certains facteurs prédisposant à la pathologie tel que l'ethnicité essentiellement l'ascendance africaine avec une incidence multipliée par 7 (45).

L'antigène leucocytaire HLA-DRB1*04 a été défini comme ayant un effet protecteur (46).

La fréquence de l'allèle HLA-DRB1 * 04 est considérablement réduite chez les patients ayant un PTTa et d'origine africaine. La faible fréquence naturelle de cet allèle peut contribuer au risque accru de développer la pathologie dans cette population.

Quant aux allèles de l'antigène leucocytaire humain (HLA)-DRB1*11 et HLA-DQB*03 :01, ils sont sur-représentés chez les patients caucasiens atteints de PTTa.

1.1.4.3 PTT au cours de la grossesse

Parmi les cas de PTT survenant chez des adultes, ceux associés à la grossesse se distinguent par une fréquence très élevée du Syndrome Upshaw-Schulman (SUS), atteignant environ 33 %. Ce taux peut même atteindre près de 50 % lorsqu'il s'agit d'une première grossesse. Le PTT lié à la grossesse se manifeste principalement au cours de la seconde moitié de la gestation. En effet, au fil de la grossesse, l'activité de l'ADAMTS13 diminue progressivement à partir de la 12^{ème} semaine de grossesse. Vers la fin de la grossesse, l'activité de l'ADAMTS13 diminue d'environ 15 à 20 % par rapport aux niveaux observés avant la grossesse (39).

Dans le cas du SUS, le PTT peut se manifester dès la première grossesse, ce qui permet de faire la différence avec la forme acquise. Le PTT obstétrical peut entraîner

des complications telles qu'un retard de croissance intra-utérin, une mortalité foetale et néonatale, en particulier si le diagnostic et la prise en charge sont tardifs.

Contrairement à d'autres conditions médicales liées à la grossesse, telles que la prééclampsie ou le syndrome HELLP, l'accouchement du foetus ne permet pas de corriger les symptômes du PTT. Par conséquent, sauf en cas de complications foetales, il n'est pas recommandé d'interrompre la grossesse, et la patiente doit être traitée conformément aux recommandations médicales habituelles.(47)

1.1.5 Épidémiologie

L'incidence du PTT est estimée à 1 à 2 cas par million d'habitants par an, avec une prévalence de 13 cas par million d'habitants. Le PTT constitue environ 3% de l'ensemble des MAT. Il est généralement de forme acquise, représentant 90% des cas, tandis que la forme congénitale, connue sous le nom de syndrome d'Upshaw-Schulman (SUS), constitue 10% des cas.

Lorsqu'un premier épisode de PTT se produit à l'âge adulte, il est généralement de nature acquise dans 98% des cas, tandis que dans 2% des cas, il est d'origine héréditaire. En revanche, lorsque le PTT survient pendant l'enfance, il est de forme acquise dans 65% des cas et d'origine héréditaire dans 35% des cas (39).

1.2 Diagnostic

1.2.1 Diagnostic clinique

1.2.1.1 Symptomatologie

Le système nerveux est l'organe le plus fréquemment atteint lors d'un épisode aigu de PTT. Les symptômes vont du simple mal de tête ou confusion transitoire (26 % à 30 %) aux déficits focaux transitoires, convulsions, accident vasculaire cérébral ou coma (30 % à 41 %). Un score sur l'échelle de Glasgow < 14 s'est avéré être associé à une multiplication par neuf de la mortalité par rapport aux patients atteints de PTT avec un score normal sur l'échelle de Glasgow. Les symptômes gastro-intestinaux sont fréquents dans le PTT (35 % à 39 %). Ceux-ci peuvent inclure des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales ou de la diarrhée. L'insuffisance rénale aiguë nécessitant une dialyse est présente chez 4 à 15 % des patients. La dysfonction rénale semble être plus fréquente chez les patients âgés. L'absence de dysfonctionnement rénal sévère aide à différencier le PTT du SHU, dans lequel l'insuffisance rénale oligurique ou anurique est plus fréquente. Bien que les symptômes cardiaques soient rares, des taux élevés de troponine ont été mesurés chez 68 % des patients et ont été associés à un pronostic plus sombre. (48)

	Fréquence (%)
Présentation clinique, %	
MAHA avec thrombocytopénie	100
Anomalies neurologiques	39-80
Majeur	18-53
Mineure	27-42
Fièvre	10-72
Symptômes gastro-intestinaux	35-39
Atteinte rénale	10-75
Pentade classique *	7
Résultats de laboratoire	
Numération plaquettaire médiane, $\times 10^9 /L$	10-17
Créatinine médiane, $\mu\text{mol/L}$	0,96-1,42
LDH médiane, U/L	1107-1750
Hématocrite médian, %	20-27

LDH, lactate déshydrogénase.

* MAHA, thrombocytopénie, anomalies neurologiques, fièvre et dysfonctionnement rénal.

Tableau 1 : Fréquence des symptômes cliniques et biologique du PTT (47)

1.2.1.2 Scores

La décision d'initier ou non un échange plasmatique est un grand défi pour les cliniciens, étant donné la rareté du PTT, la variabilité des manifestations cliniques et le chevauchement de la présentation clinique avec d'autres MAT.

Deux stratégies potentielles peuvent faciliter cette décision difficile et à fort enjeu : la disponibilité rapide de la mesure de l'activité de l'ADAMTS13 ou l'utilisation d'outils de prédiction clinique. Comme la mesure rapide de l'activité de l'ADAMTS13 n'est pas disponible dans la plupart des centres, des modèles de prédiction clinique ont

été développés. Ces scores de prédiction intègrent des paramètres cliniques et de laboratoire de routine pour estimer la probabilité pré-test de déficit sévère en ADAMTS13 (48).

Le Bentley score a été le premier à être développé. En raison de sa complexité et de la nécessité de mesurer les Ddimères, ce score n'a pas été largement adopté. Le French score, dérivé d'une cohorte de 214 patients, est quant à lui, un score plus simple à 3 composantes avec l'inclusion d'un test d'anticorps antinucléaires. Dans la cohorte de dérivation originale, un score de faible probabilité (0/3) était associé à une valeur prédictive négative de 93,3 %. Une version modifiée composée de seulement 2 composants (numération plaquettaire et concentration plasmatique de la créatinine) a donné des résultats similaires (48) (cf. table 1).

Créatinine < 200µmol Plaquettes < 30000/ml	
VPP	85%
VPN	93,30%
Spécificité	48,80%
Sensibilité	98%

Table 1: French score (49)

Le score le plus récemment développé est le PLASMIC score (cf. table 2), dérivé de la cohorte de patients du Harvard TMA Research Collaborative Registry. Il s'agit d'un score à 7 composantes, avec 1 point désigné pour chaque composante. Le

PLASMIC score classe les patients en catégories à faible risque (0-4), à risque intermédiaire (5) et à haut risque (6-7).

The PLASMIC score – modified	
	Points
Platelet count $<30 \times 10^9/L$	1
Hemolysis variables (reticulocyte count elevation; undetectable haptoglobin, or bilirubin – indirect $>2.0 \text{ mg/dL}$)	1
No active cancer	1
No history of solid-organ or stem-cell transplant	1
MCV $<90 \text{ fL}$	1
INR <1.5	1
Creatinine $<2.0 \text{ mg/dL}$	1

INR: international normalized ratio; MCV: mean corpuscular volume.

Table 2: PLASMIC score (49)

Les performances du French score modifié et du PLASMIC score ont été comparées dans une cohorte indépendante. Le score PLASMIC s'est avéré supérieur. Un avantage du score PLASMIC par rapport aux autres scores est qu'il implique des tests de laboratoire simples qui peuvent être facilement obtenus dans la plupart des situations d'urgence. Dans une étude de validation externe indépendante, le score PLASMIC a pu être calculé pour 96 % de la cohorte, alors que le French score (non modifié) et le score Bentley n'ont pu être évalués que chez 47 % et 33 %, respectivement (48).

1.2.2 Diagnostics biologiques

1.2.2.1 Paramètres biologiques

Le PTT doit être suspecté chez tous les patients atteints d'anémie hémolytique et de thrombocytopénie (cf. fig. 9). Un épisode aigu se présente presque uniformément avec une thrombocytopénie sévère (typiquement $< 30 \times 10^9 /L$) et une anémie hémolytique mécanique régénérative associant la présence de schizocytes, l'effondrement de l'haptoglobine et une bilirubine totale élevée (50) (51). Le test de Coombs est généralement négatif et les paramètres de coagulation sont très peu voire pas du tout perturbés au cours du PTT.(45)

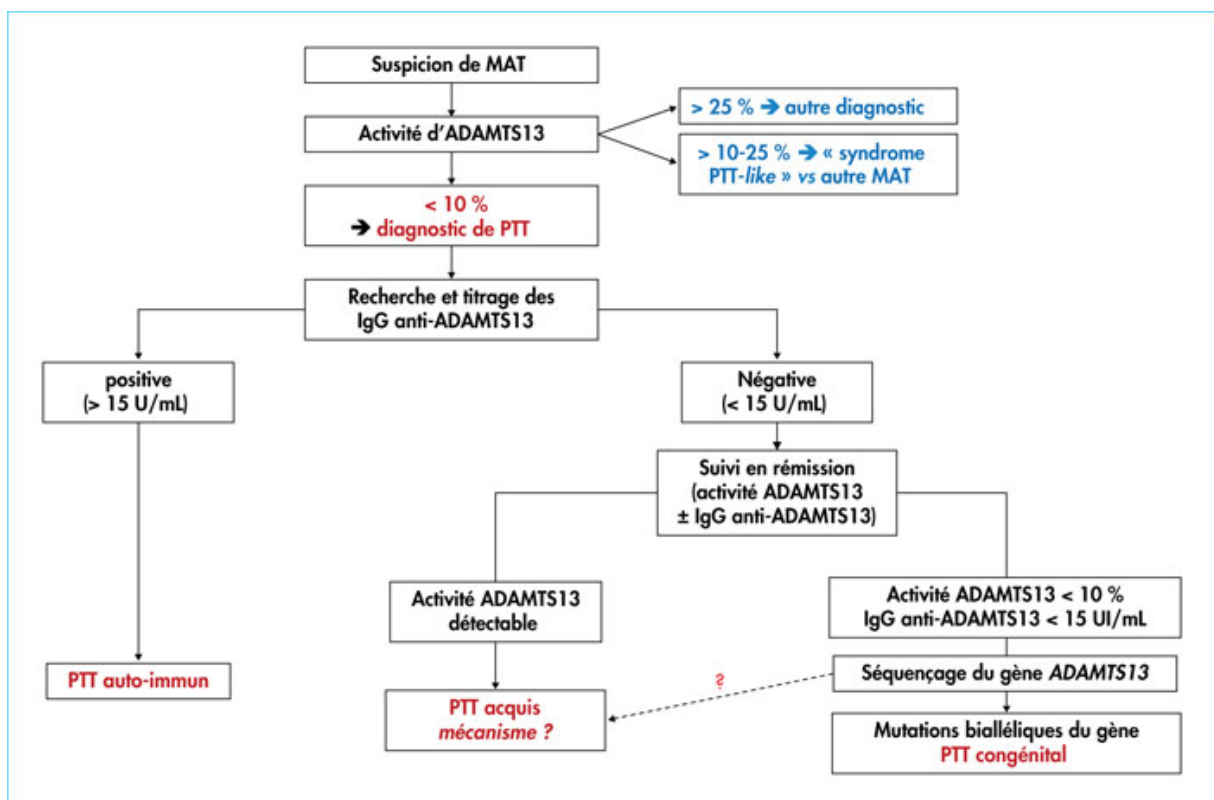


Figure 9: Organigramme pour l'investigation ADAMTS13 dans le PTT (43)

1.2.2.2 Mesure de l'activité de l'ADAMTS 13

Ils existent plusieurs techniques permettant de mesurer l'activité :

Les méthodes de 1ère génération qui utilisent le VWF entier comme substrat sont considérées, d'après le CNR-MAT (Centre national de référence des microangiopathies thrombotiques), comme étant exigeantes sur le plan technique, et l'expertise nécessaire pour les utiliser reste exceptionnellement disponible dans les laboratoires hospitaliers de biologie médicale. Il est raisonnable de penser qu'elles sont devenues obsolètes pour les soins en 2022. Dans des cas très rares, ces méthodes de première génération, notamment le Collagen Binding Assay (CBA), peuvent être utiles pour documenter les cas extrêmement rares de PTT congénital dans lesquelles des mutations exclusivement situées à l'extrémité C-terminale du gène ADAMTS13 pourraient rendre les méthodes de mesure de l'activité d'ADAMTS13 de deuxième génération insuffisante. (48).

Les méthodes dites de 2ème génération : représentent les méthodes de mesure de l'activité d'ADAMTS13 les plus appropriées en 2022 d'après le CNR-MAT. Ces méthodes utilisent un petit peptide de VWF (fragment VWF73) comme substrat.

- a) **La méthode fluorimétrique FRET-S-VWF73** : il s'agit de la méthode de référence. Le principe de cette technique repose sur la vitesse d'hydrolyse d'un peptide de 73 acides aminés qui représente le substrat minimum d'ADAMTS13 (50). Ce peptide issu du VWF est commercialisé sous le nom de FRET-S-VWF73 (Peptide Institute Inc., Osaka, Japon). Sur ce peptide est fixé un fluorochrome et un absorbeur d'énergie de telle sorte que si l'on excite le fluorochrome à une longueur d'onde de 340 nm, aucune fluorescence n'est

émise si le VWF n'est pas clivé par l'ADAMTS13. Lors de la protéolyse du FRET-VWF73, l'absorbeur d'énergie s'éloigne du fluorochrome et une fluorescence de 440 nm proportionnelle à l'activité d'ADAMTS13 est émise (cf. fig. 10). Les valeurs de références sont comprises entre 50 et 150 %.

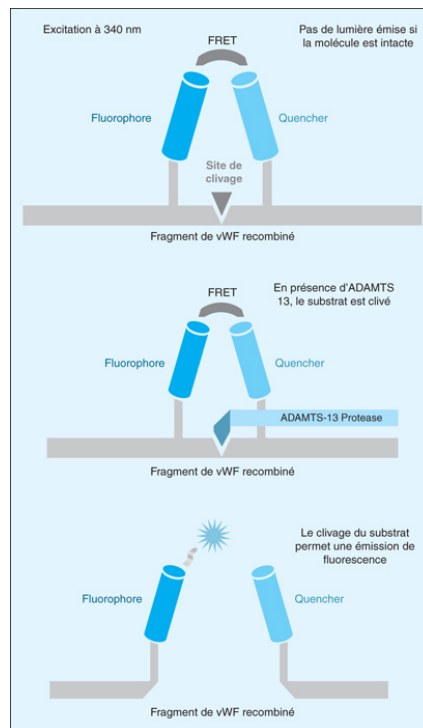


Figure 10: Principe de la mesure d'activité d'ADAMTS13 avec le substrat FRET-VWF73. FRET : Fluorescence Resonance Energy Transfer (50)

b) **Les méthodes chromogéniques ELISA** : Le substrat GST – VWF73 est fixé sur une plaque de 96 puits par un anticorps anti-GST. L'ADAMTS13 présent dans le plasma du patient clive le substrat. La réaction est révélée par un anticorps monoclonal conjugué à la peroxydase. L'activité peroxydasique est révélée par ajout de tetraméthylbenzidine puis arrêtée par de l'H₂SO₄ à 0,5 M au bout de 30 min. Les résultats de densité optique obtenus à 450 nm sont ensuite convertis en % grâce à une gamme d'étalonnage. Les valeurs de références sont comprises entre 50 et 150 %. Au centre biologie pathologie du

CHU de Lille, nous utilisons la technique ELISA (TECHNOZYM ADAMTS13 ACTIVITY, technoclone) (cf. fig. 11).

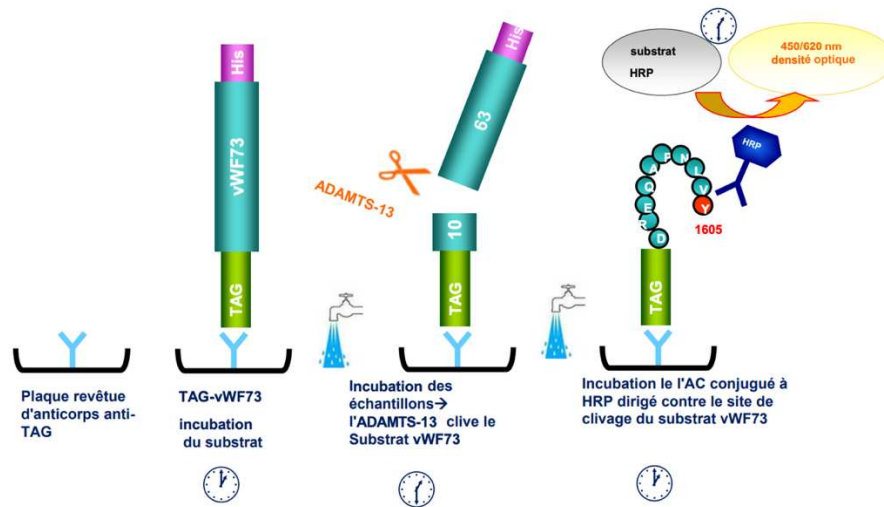


Figure 11: **Principe de mesure de l'activité de l'ADAMTS13**

La méthode de 3ème génération automatisée, par chimiluminescence

(automate Acustar Werfen IL) est, d'après le CNR-MAT, « très prometteuse au vu des très bons résultats des évaluations réalisées depuis 2019 mais nous n'avons que quelques années de recul sur son utilisation en pratique courante. La question de la pérennité de la qualité des réactifs Werfen IL (production, reproductibilité de la qualité des lots...) notamment, demeure en suspens, là encore en raison du faible recul d'utilisation en vie réelle dont nous disposons en 2022 » ; Le CNR MAT a mis en évidence que la méthode utilisant la chimiluminescence semble être très appropriée pour la surveillance biologique en raison de ses performances analytiques robustes dans la zone 0 à 25 %. Comme le rapport le souligne également, cette méthode est caractérisée par sa rapidité. Cependant, selon le CNR-MAT et le CNP-BM (Conseil national professionnel de biologie médicale), les

méthodes basées sur la chimiluminescence présentent une sensibilité et une spécificité légèrement inférieures à la méthode de référence, FRET VWF73. (3). Néanmoins, une note du laboratoire WERFEN de février 2022 recommande de vérifier tous les résultats d'ADAMTS13 <10% par une autre technique (ELISA ou FRET) afin de confirmer les nouveaux diagnostics de PTT.

1.2.2.3 Recherche et titrage des anticorps anti-ADAMTS13

Titrage d'Ac par technique Bethesda : Les échantillons sont soumis à un processus d'inactivation par la chaleur pendant 30 minutes à une température de 56°C. Ensuite, ils sont mélangés à diverses dilutions avec un pool de plasma normal. Après incubation, l'activité résiduelle d'ADAMTS13 est mesurée et exprimée en unités Bethesda (1 UB/ml d'inhibiteur inhibe 50 % de l'activité d'ADAMTS13 d'un plasma normal) (52). Actuellement, en France, cette technique est rarement utilisée car elle est semi-quantitative et demande un temps considérable pour être réalisée (33). De plus, elle présente des risques d'erreurs en raison de la manipulation du plasma et offre une sensibilité limitée en raison des dilutions successives. Il est également important de noter que jusqu'à 10% des patients atteints de PTT possèdent des auto-anticorps qui ne parviennent pas à inhiber l'ADAMTS13. Enfin, il convient de signaler qu'un titre d'IgG anti-ADAMTS13 supérieur à 30 UB est exclusivement associé à une activité inhibitrice (33).

Mesure de l'inhibition : Il est possible de mesurer un pourcentage d'inhibition, simultanément à la mesure de l'activité de l'ADAMTS13. Cette technique dérive de la méthode Bethesda, elle consiste à mesurer l'activité résiduelle de l'ADAMTS13 dans le mélange d'un plasma témoin et du plasma patient préalablement chauffé contenant des anticorps (Ac). Le pourcentage d'inhibition est égal au taux attendu soustrait du taux mesuré divisé par le taux attendu. Le résultat obtenu est significatif s'il est > 40%.

Titration des Ac par technique ELISA : cette méthode de détection des IgG est la plus répandue : elle utilise l'ADAMTS13 recombinant de type sauvage et une révélation par des anticorps anti-IgG humaine. Elle dose les IgG anti-ADAMTS-13 (en U/ml) mais ne détectent pas les anti-ADAMTS-13 d'autres classes (IgA, IgM) (39). La référence est identique à celle du dosage de l'activité ADAMTS13. Les résultats de densité optique obtenu à 450 nm sont ensuite convertis en U/ml, grâce à une gamme d'étalonnage. Le dosage est positif si le titre est > 25 U/ml).
À Lille, la méthode de titration par ELISA est utilisée depuis 2005 (TECHNOZYM INH – technoclone) (cf. fig. 12).

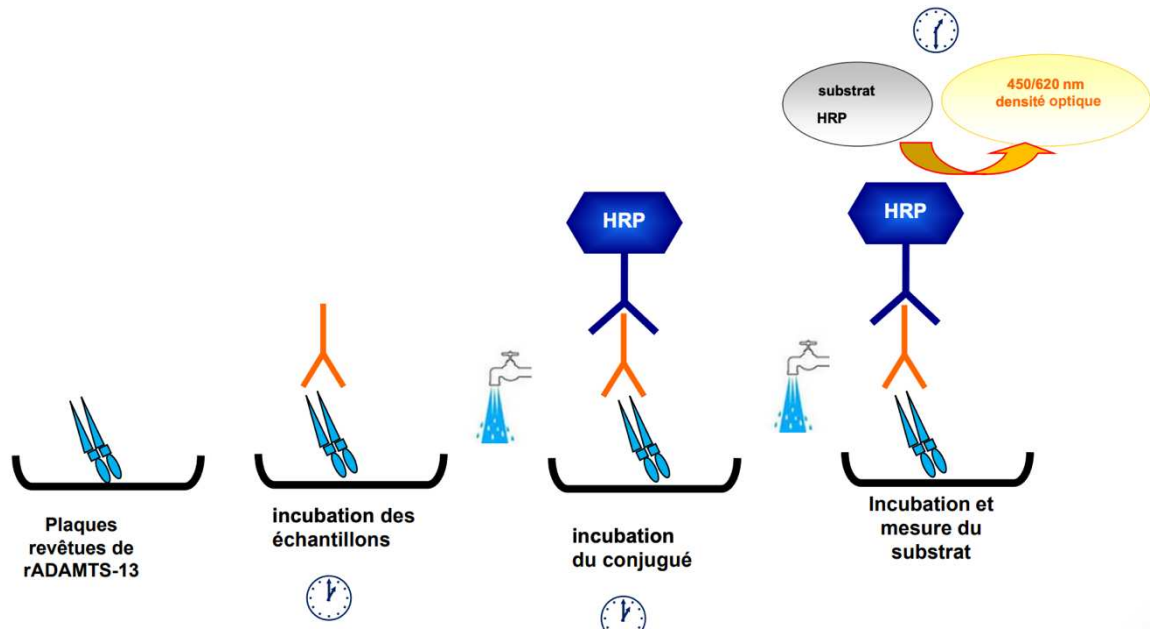


Figure 12: **Principe de mesure des anticorps anti-ADAMTS13**

1.2.2.4 Recherche de mutation du gène de l'ADAMTS13

Le gène de l'ADAMTS13 est localisé sur le chromosome en position 9q34.2 et s'étend sur 37 kb, comprenant 29 exons. Lorsqu'il s'agit du cas index, la détection des mutations repose sur une technique de séquençage haut débit couvrant les 29 exons du gène ADAMTS13, ainsi que les jonctions entre les exons et les introns, les régions 3'UTR et 5'UTR, ainsi que le promoteur du gène. En ce qui concerne les membres de la famille, seul(s) le ou les exons mutés chez le cas index sont soumis au séquençage (53). À l'heure actuelle, la recherche de mutations ADAMTS13 n'est effectuée que dans un laboratoire spécifique, à savoir le CHU de Nantes. Les délais moyens pour obtenir les résultats sont d'environ quatre mois pour les cas index et d'un mois pour les apparentés (39).

1.2.3 Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel implique l'exclusion d'autres maladies qui peuvent présenter des symptômes similaires au PTT.

- a) Le syndrome hémolytique et urémique (SHU) est une affection similaire au PTT, caractérisée par une anémie hémolytique microangiopathique, une thrombocytopénie et une insuffisance rénale aiguë. Les deux affections peuvent être cliniquement difficiles à distinguer.

- b) La coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) est un état pathologique caractérisé par une activation généralisée de la coagulation sanguine, entraînant la formation de caillots dans les petits vaisseaux, une thrombocytopénie et des saignements. Elle peut être causée par diverses affections sous-jacentes (infections graves, complications obstétricales, cancers ou traumatismes sévères).

- c) L'anémie hémolytique auto-immune (AHAI) est une maladie dans laquelle le système immunitaire attaque et détruit les globules rouges, entraînant une anémie hémolytique pouvant être associée à une thrombocytopénie. Le test de Coombs positif.

- d) Le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie auto-immune qui peut affecter divers organes. Il peut parfois provoquer une thrombocytopénie et d'autres symptômes similaires à ceux du PTT.

- e) La thrombocytopénie induite par l'héparine (TIH) est caractérisée par une thrombopénie sans anémie conjointement à un traitement par héparine.

- f) Le HELLP syndrome est une MAT localisée dans le foie, il s'agit d'une forme sévère de pré-éclampsie. Elle se manifeste également par l'association d'une anémie hémolytique, d'une thrombopénie et spécifiquement d'une cytolysé hépatique. Parfois certains signes neurologiques peuvent être retrouvés tel que un flou visuel souvent dû à un œdème cérébral postérieur (Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome), amenant la confusion avec le diagnostic clinique du PTT (54).

1.3 Prise en charge thérapeutique

1.3.1 PTT acquis

1.3.1.1 Échanges plasmatiques

Les échanges plasmatiques (EP) en présence du plasma frais congelé (PFC) est le fondement du traitement de première intention du PTT (45). Le principe de L'EP est d'apporter de l'ADAMTS13 tout en éliminant les auto-anticorps anti-ADAMTS13 circulants. Les retards de traitement peuvent entraîner une mortalité précoce. En règle générale, un échange de volume plasmatique de 1 à 1,5 × est effectué pendant les trois premiers jours, suivi d'un échange de volume plasmatique de 1 × chaque jour par la suite. Bien qu'il n'y ait pas de durée optimale de traitement ou de nombre pré-spécifié de procédures requises, le traitement doit être poursuivi quotidiennement jusqu'à l'obtention d'une réponse clinique (définie par une numération plaquettaire $\geq 150 \times 10^9 /L$) et maintenue pendant deux jours (45).

1.3.1.2 Traitement immunosupresseurs

Le traitement immunosuppresseur associe les corticoïdes, le Rituximab. Le principe général du traitement est de cibler la production d'anticorps pour permettre la récupération des taux circulants d'ADAMTS13.

Les corticostéroïdes : Étant donné le mécanisme auto-immun longtemps suspecté dans le PTT, les corticoïdes ont été utilisés comme traitement de la maladie depuis de nombreuses années. Bien qu'il existe un niveau de preuve faible, il y a un consensus solide pour les associer aux échanges plasmatiques (EP) à une dose de

1 à 1,5 mg/kg/jour pendant la phase aiguë, généralement pendant 2 à 3 semaines, avec une réduction sur une semaine. Il a été suggéré qu'une corticothérapie à des doses plus élevées pourrait présenter un intérêt par rapport à une corticothérapie standard. Cependant, la recommandation actuelle, bien que basée sur des preuves empiriques, est de suivre une corticothérapie standard. Il n'est pas nécessaire de traiter préventivement l'ostéoporose cortisonique en cas de traitement par corticoïdes de moins d'un mois, ce qui est généralement la norme. Les corticoïdes sont administrés initialement par voie intraveineuse immédiatement après la fin des échanges plasmatiques, puis par voie orale (1).

[Le Rituximab](#) : est un anticorps monoclonal dirigé contre CD20, ciblant spécifiquement les cellules B. Le rituximab est administré le plus souvent pendant la phase aiguë de PTT, généralement pendant les premiers jours d'hospitalisation ou peu de temps après. Une méta-analyse récente montre que le rituximab administré lors d'un épisode aigu de PTT non seulement réduit le taux de rechute mais réduit également la mortalité. Le rituximab semble également être efficace chez les patients présentant un PTT réfractaire ou une mauvaise réponse aux EP. La posologie standard du rituximab est de 375 mg/m²/ semaine pour un total de quatre doses, ce qui est recommandé à la fois pour les épisodes initiaux de PTTa et pour les rechutes (45).

Le Caplacizumab (CABLIVI)®

Depuis 2019, le Caplacizumab est utilisé dès le diagnostic, en association avec les échanges plasmatiques (EP). Ce médicament est un nano-anticorps bivalent d'environ 28 kDa, composé de deux domaines variables de chaînes lourdes d'immunoglobuline reliées par trois résidus d'alanine. Il a reçu l'approbation en Europe en août 2018 (AMM) et aux États-Unis en février 2019 pour le traitement du PTT a (3). Le Caplacizumab agit en se liant au domaine A1 du VWF, inhibant ainsi l'interaction entre le VWF et son récepteur plaquettaire, la glycoprotéine 1b, dans des conditions de cisaillement élevées. Cette action prévient la formation de microthrombi plaquettaires en présence des multimères de VWF de haut poids moléculaire. Ce mécanisme d'action inhibe la formation des microthrombi à la phase aiguë en stabilisant les plaquettes, jusqu'à ce que les échanges plasmatiques et l'immunomodulation corrigent l'activité de l'ADAMTS13 à des seuils protecteurs. (cf. fig. 13).

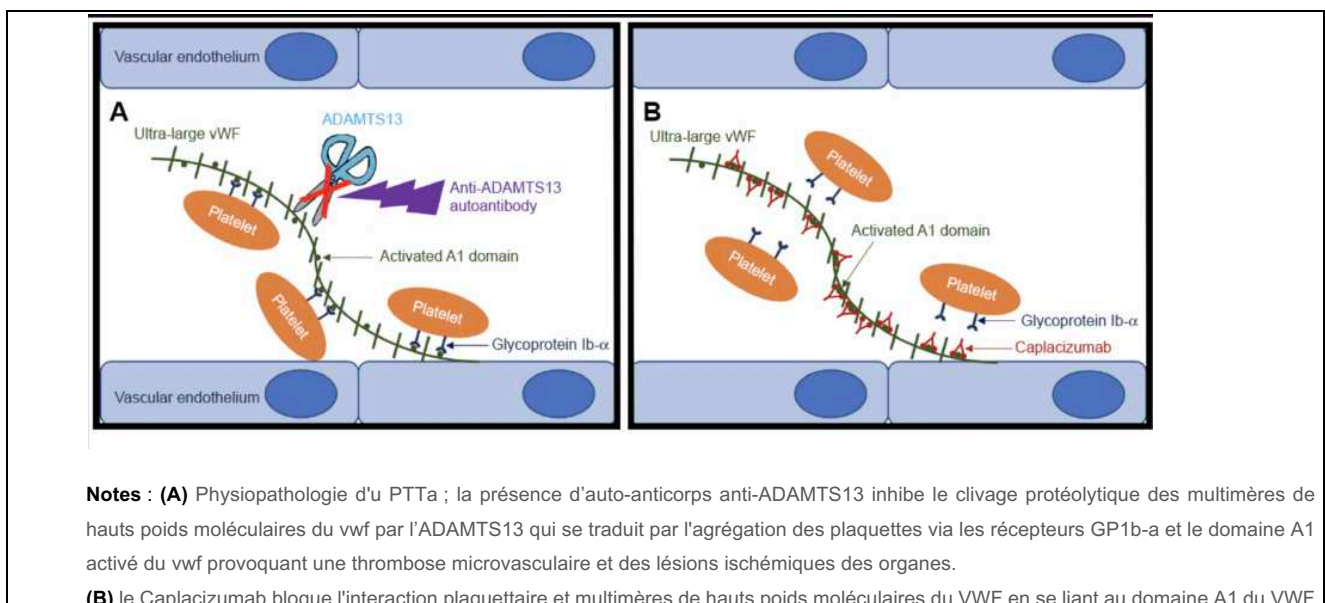


Figure 13: Mécanisme d'action du Caplacizumab (55)

1.3.2 PTT congénital

Dans la forme congénitale du PTT, la plasmathérapie prophylactique est une option thérapeutique actuellement disponible (généralement 10 ml/kg) et la fréquence des perfusions de plasma est guidée par la tolérance et la chronicité de la maladie. Le titrage des IgG anti-ADAMTS13 doit être effectué régulièrement chez ces patients afin de détecter la survenue potentielle d'allo-anticorps anti-ADAMTS13 (56).

L'ADAMTS13 recombinante humaine (rADAMTS13) à être évaluée chez l'homme et présente un profil comparable à l'ADAMTS13 humaine (57) et réduit les défaillances d'organes (58) .

1.3.3 Évolution d'un PTTa

Les différentes évolutions possible d'un PTT ont été redéfinies par l'International working group on PTT (59). Il différencie :

La réponse clinique qui est définie par une numération plaquettaire $\geq 150 \times 10^9 /L$ de manière soutenue, LDH $< 1,5$ fois la limite supérieure de la normale associée à l'absence de signes cliniques, de lésion ischémique nouvelle ou progressive d'un organe (59).

L'exacerbation clinique survient après une réponse clinique avant la rémission clinique. Elle se définit par une numération plaquettaire qui diminue à moins de $150 \times 10^9 /L$ (après avoir exclu les autres causes de thrombopénie), avec ou sans signe clinique de lésion ischémique nouvelle ou progressive d'un organe, dans les 30 jours après l'arrêt des échanges plasmatiques ou du traitement anti-VWF (59).

La rémission qui se divise en 3 composantes :

- a) La rémission clinique : Il s'agit d'une réponse clinique soutenue, sans échanges plasmatiques ni traitement anti-VWF depuis au moins 30 jours, ou obtention d'une ADAMTS13 >20%.
- b) La rémission partielle ADAMTS13 : intégrant une activité d'ADAMTS13 ≥ 20 % et < limite inférieure de la normale,
- c) La rémission complète ADAMTS13 : qui se définit par une activité d'ADAMTS13 \geq limite inférieure de la normale (59)

La rechute avec :

- a) Une rechute clinique est définie comme suit : après une période de rémission clinique, la numération plaquettaire passe sous le seuil de $150 \times 10^9 /L$, en excluant d'autres causes de thrombopénie, avec ou sans preuves cliniques de nouvelles lésions ischémiques. Pour confirmer une rechute clinique, il est nécessaire de documenter un déficit sévère en ADAMTS13. (59).
- b) la rechute ADAMTS13 : après une rémission clinique (partielle ou complète), l'activité d'ADAMTS13 dosée à moins de 20 % (59).

1.3.4 Suivi des patients atteints de PTT

L'évaluation de l'activité d'ADAMTS13 est cruciale dans le suivi des patients atteints de PTT (Purpura Thrombotique Thrombocytopenique). Ceci est dû au fait que la carence sévère en ADAMTS13 est généralement la première anomalie à se manifester, suivie par d'autres complications telles que les cytopénies, l'hémolyse et les atteintes d'organes. La procédure de suivi comprend plusieurs étapes importantes. Initialement, après que les taux de plaquettes sont revenus à la normale (et que les EP sont arrêtés), le dosage de l'activité d'ADAMTS13 et la surveillance biologique sont effectués de manière hebdomadaire. Cette surveillance se poursuit jusqu'à ce que l'activité d'ADAMTS13 atteigne partiellement des taux de 20 à 30%. Ensuite, un contrôle additionnel est réalisé après 28 jours pour confirmer la normalisation, visant idéalement un taux d'au moins 50 %. Par la suite, les contrôles sont espacés, passant d'abord à une fréquence de tous les trois mois, puis de tous les six mois, et ce, sur plusieurs années. En principe, la surveillance est effectuée à vie. (3)

En cas de déficit sévère en ADAMTS13 survenant pendant une période de rémission, les patients reçoivent des perfusions préventives de rituximab. Dans cette situation, la surveillance, incluant des analyses biologiques standards et la mesure de l'activité d'ADAMTS13, est effectuée un mois après la perfusion, puis d'un suivi trimestriel une fois que l'activité d'ADAMTS13 est restaurée. (3).

De plus, tout patient présentant des signes cliniques ou biologiques suggérant une rechute du PTT, une mesure supplémentaire de l'activité d'ADAMTS13 sera réalisée. Enfin, pour les patients ayant des antécédents de PTT, une évaluation de l'activité

d'ADAMTS13 est également réalisée en cas de projet de grossesse ou en vue d'une intervention chirurgicale planifiée. (3)

Dans l'ensemble, la surveillance régulière de l'activité d'ADAMTS13 est essentielle pour le suivi et la gestion efficace des patients atteints de PTT, permettant de détecter les anomalies précoces et d'ajuster les traitements en conséquence.

2 OBJECTIFS

Le diagnostic d'un PTTa repose sur le dosage de l'activité de l'ADAMTS13 associé à la recherche de l'AC anti-ADAMTS13 par technique ELISA qui détecte les IgG polyclonales anti ADAMTS13. Lorsque la recherche par technique ELISA est négative, nous réalisons la technique Bethesda qui consiste à détecter l'activité inhibitrice du plasma patient vis-à-vis de l'ADAMTS13 d'un plasma témoin. Le résultat s'exprime en pourcentage d'inhibition, et le résultat est positif à partir de 40% d'inhibition.

Nous avons repris les dossiers des patients présentant un PTTa sans Ac détecté par technique ELISA mais avec un test d'inhibition positif, afin de détailler les circonstances d'apparition de la maladie ainsi que l'évolution au cours du traitement et d'identifier un lien éventuel entre la présentation clinique de la maladie chez ces patients et leurs caractéristiques biologiques.

Peu de travaux se sont intéressés à ce type de patients.

Un travail récent a détaillé la conformation de l'ADAMTS13 et l'immunoprofil des patients japonais atteints de PTTa, en effet le diagnostic de PTTa au japon est basé sur le test d'inhibition, sur 195 patients en phase aiguë de PTTa, l'IgG anti-ADAMTS13 n'était pas détectée pour 12 patients (blood 2023). Aucune explication n'est apportée à cette discordance.

La détection d'une inhibition sans Ac identifié est donc connue. L'objectif de ce travail est de colliger les données clinico- biologiques de ces patients, d'étudier leur mode de rechutes, afin d'identifier éventuellement des profils communs et d'apporter des arguments pour poursuivre la caractérisation de cette dysimmunité : conformation de l'ADAMTS13, classe d'IgG, immunoprofil.

3 MÉTHODES

Pour cette étude nous avons identifié les patients porteurs d'un PTTa caractérisés au diagnostic par un test d'inhibition positif sans détection de l'anticorps associé par technique ELISA, de la région des Hauts de France, entre 1992 et 2021.

L'ensemble des données cliniques, biologiques, les traitements reçus, l'évolution du PTT et le profil de rechute ont été analysés.

4 RÉSULTATS

Entre 1992 et 2022, 74 diagnostics de PTTa ont été réalisés au laboratoire du CHU de Lille, parmi lesquels 12 PTTa étaient caractérisés par un test d'inhibition positif sans détection d'auto-anticorps à la phase inaugurale.

PROFIL PATIENT 1 :

Histoire de la maladie

PTTa diagnostiqué en 1992, chez une patiente de 34 ans, caractérisé par une anémie hémolytique avec 20% de schizocytes associée une thrombopénie.

Prise en charge thérapeutique par plasmaphérèse.

Splénectomie en 1993 après 4 récurrences de PTT.

Cette patiente présente la particularité d'avoir une activité ADAMTS13 indosable (sauf en 2006 et en 2007), même en période de rémission. Les Ac sont mesurés jusqu' 'en 2007 par technique Bethesda. Les tests ELISA utilisés depuis 2007 ne permettent pas détecter les Ac, mais l'activité inhibitrice du plasma reste positive.

Malgré une activité ADAMTS13 effondrée et des Ac présents, la patiente ne présente aucune manifestation de PTT, ni biologique ni clinique.

En décembre 2018, la patiente présente une rechute biologique en post remplacement de valve aortique par bioprothèse pour rétrécissement aortique, dans un contexte de bactériémie à *Klebsiella oxytoca* et d'hyperthermie à 39°C (NP = 15 G/l, hb = 9 g/dl, haptoglobine effondrée) Prise en charge par plasmaphérèse associée à un traitement par corticoïdes et rituximab.

Cette patiente est suivie depuis en consultation de néphrologie : les dosages de l'ADAMTS13 sont régulièrement $< 1\%$ sans présence d'auto-anticorps ou faiblement dosés, associés à une inhibition positive ($> 40\%$), sans anémie hémolytique ni thrombopénie. Il a été réalisé en février 2021, avril 2022 et janvier 2023, de façon prophylactique, des injections de rituximab. On observe en février 2023, une activité ADAMTS13 majorée à 29%

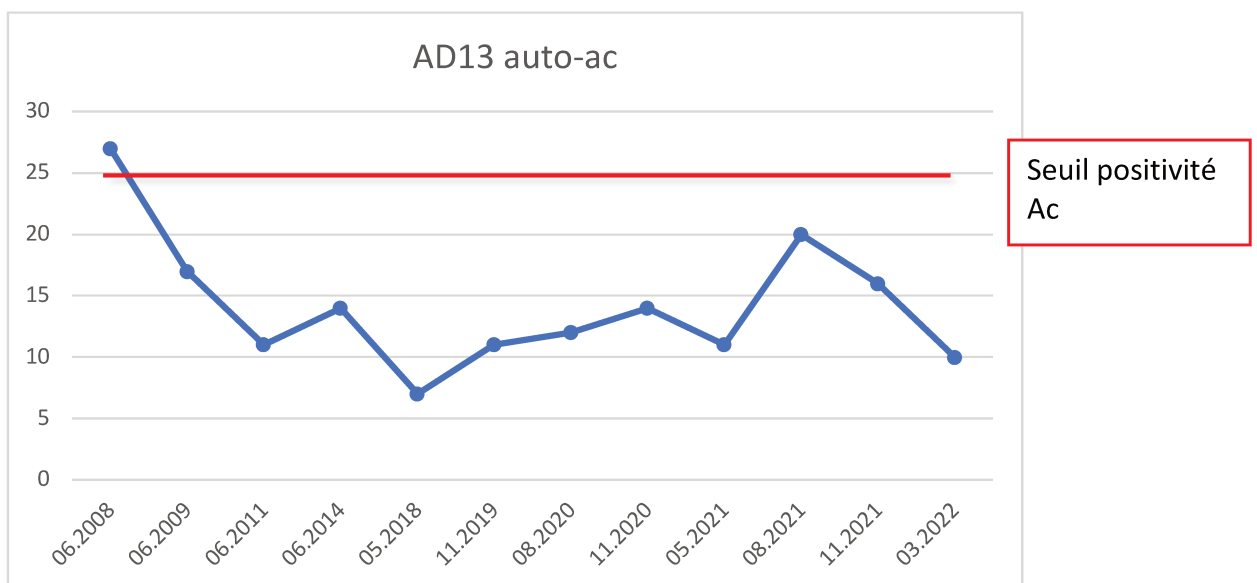


Figure 14: *Évolution du taux d'anticorps anti-ADAMTS13 du patient 1*

Profil biologique

Paramètre/date	1992	2002	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Hémoglobine (g/dl)					14,3	13,7	13,3	14,3	13,5	13,3	13,9	13,8	14	12,7	9	10,9	12,8	12	12	11,7
Plaquettes (G/l)					381	414	484	435	416	408	357	384	411	439	15	359	327	413	453	457
Schizocytes (%)	20				<1		<1	<1	<1	6	<1	<1			2		<1	1-2	<1	<1
Réticulocytes (G/l)												66				67	107	80	78	71
Haptoglobine (g/l)	Indos.							2,07	1,47	1,48	1,79	1,54			Indos.	1,31	1,24	1,42	1,62	1,44
LDH (U/l)					517	414	489	665	566	246	302	280	251	261	375	341	333	351	261	308
Urée (g/l)					0,4	0,30	0,27	0,31	0,42	0,28	0,38	0,47	0,51	0,35	0,41	0,49	0,49	0,3	0,50	0,48
Créatinine (mg/l)					9	8	9	9	9	9	10	11	11	11	16	12	11	12	10	11
ADAMTS13 activité (%)		<10	<10	17	51	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	29
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)				330	215	27	17	58	11	25	35	14	17	18	11	11	14	16	4	2
Test d'inhibition (%)		Nég	Nég 34%			Pose 60%		Pose 58%	Pose 41%				Pose 46%	Pose 58%	Pose 57%		Pose 57%	Pose 51%		

Tableau 2: **Profil biologique du patient 1**

PATIENT 2 :

Histoire de la maladie

PTTa diagnostiqué en Aout 2002 chez un patient de 28 ans dans un contexte de céphalées persistantes depuis une dizaine de jours sans syndrome infectieux.

Sur le plan biologique, on notait une anémie sévère associée à une thrombopénie. L'activité ADAMTS13 est à 9% sans autoanticorps détectés, mais associée à une inhibition à 61%. Une hématurie importante est notée en l'absence de toutes manifestations fonctionnelles.

Prise en charge par plasmaphérèse et corticoïdes associés à la transfusion de 2 culots globulaires. Exacerbation après arrêt précoce des plasmaphérèses en raison d'une correction rapide des plaquettes qui a nécessité une reprise des plasmaphérèses.

Rechute du PTT en 2005, les Ac n'ont pas été recherchés et le test d'inhibition était positif, sans plus de détail. Les rechutes survenues en 2007, 2008 et 2010 étaient associées à la détection d'auto-anticorps. Le rituximab a été introduit pour la première fois en 2010, à partir de cette date, les Ac ne sont plus détectés, malgré un test d'inhibition positif, lors des 4 rechutes en 2012, 2013, 2014 et 2020 traitées par rituximab. Aucun évènement n'a été observé depuis 2020.

Profil biologique

Paramètre/date	2002	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2023
Hémoglobine (g/dl)	7,2																	
Plaquettes (G/l)	14																	
Schizocytes (%)	3																	
Réticulocytes (G/l)	361																	
Haptoglobine (g/l)	Indosa ble																	
LDH (U/l)	911																	
Urée (g/l)																		
Créatinine (mg/l)	11																	
ADAMTS13 activité (%)	9	<10	70	<10	<10	19	<10	<10	<10	<10	<10	75	80	99	53	55	<10	57
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	5		23	130	418	14	81	5	5	18	14	2	<2	5	7	9	5	11
Test d'inhibition (%)	61	Pose							Pose 57%	Pose 42%	Pose 60%	Nég					Pose 61%	

Tableau 3: **Profil biologique du patient 2**

PATIENT 3 :

Histoire de la maladie

PTTa diagnostiqué en 2008 chez une patiente de 45 ans, dans un contexte de syndrome grippal. Présence d'une anémie hémolytique et d'une thrombopénie : L'activité ADAMTS13 est dosée à 32% après plusieurs échanges plasmatiques, sans détection d'autoanticorps, associée à une inhibition à 51%. L'ensemble du tableau clinico- biologique est en faveur d'un purpura thrombotique thrombocytopénique sans défaillance rénale associée.

La patiente a bénéficié de 7 échanges plasmatiques associés à une corticothérapie. Exacerbation après une première tentative de sevrage de la plasmaphérèse.

En septembre 2009 et en juillet 2011 récurrences cliniques au décours d'un épisode infectieux des voies aériennes sans détection d'Ac, le test d'inhibition réalisé en juillet 2011 est positif à 81%

Au cours du suivi en décembre 2012, l'ADAMTS13 est dosée à 27%, sans Ac associés et un test d'inhibition positif à 52%, la patiente est asymptomatique. En juin 2013, la patiente est hospitalisée pour prise en charge d'une rechute du PTT avec souffrance myocardique, l'activité ADAMTS13 est indosable, les Ac ne sont pas significatifs, et le test d'inhibition est à 76%. La patiente décédera d'un choc cardiogénique.

Profil biologique

DATE	07/2008	07/2009	2010	07/2011	2012	06/2013
Hémoglobine (g/dl)	5,8	8,4	14,5	5,9	14,2	8
Plaquettes (G/l)	6	8	308	7	299	12
Schizocytes (%)	2 - 3	6	<1	20	<1	2
Réticulocytes (G/l)	140	152		184		
Haptoglobine (g/l)	Indos.	Indos.	1,74	Indos.	2,19	Indos.
LDH (U/l)	/	1596	597	3522	308	1283
Urée (g/l)	0,33	0,56	0,26	0,64	0,26	0,54
Créatinine (mg/l)	6	7	6	6	6	7
ADAMTS13 Activité (%)	32	<10	49	<10	27	<10
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	6	23	11	23	6	21
Test Inhibition (%)	Pose 51%			Pose 81%	Pose 52%	Pose 87%

Tableau 4: Profil biologique du patient 3

PROFIL PATIENT 4 :

Histoire de la maladie

PTTa diagnostiqué en 2010 chez une patiente de 36 ans présentant une altération de l'état général avec hyperthermie à 39°C associée à une insuffisance rénale aigue. Le bilan biologique révèle une anémie et une thrombopénie, une activité ADAMTS13 < 1%, une inhibition à 100%, et un dosage d'Ac sous le seuil de positivité.

La prise en charge a consisté en 5 échanges plasmatiques associés à un traitement par corticoïdes.

Une rechute du PTT est survenue en décembre 2012, sans Ac associés et test d'inhibition positif à 94%, traité par échanges plasmatiques associés à un traitement par corticoïdes et rituximab. Depuis, la patiente est restée en rémission, mais il a été observé à plusieurs reprises, en février 2014, octobre 2015, Juin 2018, et juin 2023, une baisse de l'activité ADAMTS13 sans Ac détectés. Le test d'inhibition n'a pas été réalisé. À ces occasions, la patiente a bénéficié d'injections prophylactiques de rituximab.

Tableau 5: Profil biologique du patient 4

Paramètre/date	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Hémoglobine (g/dl)	5,9	14,2	11.9	14,3	14,2	14,6	14,8	14,5	14,2	14,3	13,1	13.6	14,4	14
Plaquettes (G/l)	3	311	8	383	343	369	360	375	323	378	334	393	329	345
Schizocytes (%)	6-11	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1		<1	<1
Réticulocytes (G/l)	Rég.		77	67	82	145	101	103	112	115	119		131	117
Haptoglobine (g/l)	Indo.	0,91	<0.07	1,66		1,56	1,84	1,57	1,08	1,19	1,34		1,4&	1,07
LDH (U/l)	2909	543	692	215	257	284	233	179	202	254	212		239	234
Urée (g/l)	0,81	0,31		0,33	0,44	0,38	0,41	0,35	0,43	0,43	0,42	0,36	0,37	0,39
Créatinine (mg/l)	15	9		9	10	9	9	9	9	8	10	9	10	9
ADAMTS13 activité (%)	<10	94	<10	90	23	10	99	38	15	103	51	33	36	17
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	24	13	10	8	12	13	14	6	5	4	4	3	4	6
Test d'inhibition (%)	Pose 100%		Pose 94%	Neg	Nég.			Nég.				Neg		

PATIENT 5 :

Histoire de la maladie

PTTa diagnostiqué chez une patiente de 84 ans en novembre 2011 à la suite d'un épisode d'aphasie complètement régressif en 5 minutes. La patiente avait par ailleurs signalé des épisodes de diplopie spontanément résolutifs la semaine précédente.

Le bilan met en évidence une anémie hémolytique avec thrombopénie et conservation de la fonction rénale. L'hypothèse évoquée est celle d'une MAT de type PTT en raison de l'atteinte neurologique prédominante, rapidement confirmée avec une activité ADAMTS 13 inférieure à 1% sans anticorps anti-ADAMTS13 associés et une inhibition positive à 90%.

La patiente a bénéficié d'échanges plasmatiques associés à un traitement par corticoïdes et rituximab. L'évolution est favorable dans un premier temps, avec la correction de la thrombopénie et des paramètres d'hémolyse. A l'occasion de la 3^{ème} cure de rituximab, une thrombopénie est constatée à 40 G/l, l'hémoglobine à 10,8 g/dl. La fonction rénale demeure normale. Il s'agit d'une exacerbation du PTTa.

La patiente a donc bénéficié de 2 séances supplémentaires d'échanges plasmatiques

Dans le cadre du suivi en néphrologie, la patiente a bénéficié à plusieurs reprises d'une injection de rituximab prophylactique en 2014, 2017 et 2018, en raison d'une activité ADAMTS13 basse sans anémie ni thrombopénie.

Profil biologique

Paramètre/date	11/2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2020	2021	2022	2023
Hémoglobine (g/dl)	7,9	16,4	15,7	15,5	15	14,4	15,4	15,5	15	15,2	15,9	14,9
Plaquettes (G/l)	22	233	271	285	236	259	287	238	263	299	274	322
Schizocytes (%)	6 -11	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Réticulocytes (G/l)	293		52	41	73	77	60	50	59	59	67	54
Haptoglobine (g/l)	Indos.	1,65	1,29	1,87	1,37	1,65	1,69	1,51	1,64	1,21	1,28	2,75
LDH (U/l)	703	262	205	292	238	225	246	211	184	Int.	Int.	182
Urée (g/l)	0,39	0,31	0,30	0,27	0,24	0,34	0,38	0,36	0,26	0,34	0,34	0,26
Créatinine (mg/l)	22	8	9	8	9	8	9	9	8	8	8	8
ADAMTS13 activité (%)	12	82	53	13	23	21	12	15	60	60	35	70
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	9	10	11	12	15	8	6	12	10	5	11	10
Test d'inhibition (%)	90					Nég.	Neg	Neg				

Tableau 6: Profil biologique du patient 5

PATIENT 6 :

Histoire de la maladie

PTT a diagnostiqué en mai 2018, chez une jeune patiente âgée de 30 ans, dans un contexte de purpura pétéchial diffus au niveau des membres inférieurs, associé à une dyspnée et à des épigastralgies en barre d'apparition brutale.

La patiente relate une asthénie, une anorexie et une perte de 10 kg en 3 mois.

L'apparition d'un ictère conjonctival associé à des douleurs abdominales persistantes, non calmées par le paracétamol, conduisent la jeune femme à consulter. Suspicion de PTT avec atteintes neurologique et digestive.

Le bilan biologique révèle une anémie hémolytique associée à une thrombopénie profonde, une activité ADAMTS13 <1% sans anticorps et une inhibition mesurée à 92%.

La détection d'une inhibition significative a permis de lever le doute sur une forme constitutionnelle du PTT, dans la mesure où la patiente relatait un diagnostic de PTI au cours de sa première grossesse.

La prise en charge thérapeutique associant des plasmaphérèses à un traitement immunosuppresseur (corticoïdes + rituximab) a permis une normalisation de l'activité ADAMTS13

Suivi régulier sans rechute entre mai 2018 et décembre 2020.

En décembre 2020, rechute du PTT (ADAMTS13 < 10%, absence d'Ac, inhibition = 84%). Cet épisode a été pris en charge par échanges plasmatiques, traitement immunosuppresseur (corticoïdes + rituximab) et Caplacizumab.

Profils biologiques

Paramètre/date	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Hémoglobine (g/dl)	9,3	13,7	11,9	13,2	13,4	13,6
Plaquettes (G/l)	3	253	9	253	268	230
Schizocytes (%)	6 - 11	<1	<1	<1	<1	<1
Réticulocytes (G/l)		62		53	50	58
Haptoglobine (g/l)	<0.07	1,39	<0.07	1,08	1,16	1,53
LDH (U/l)	1248	196	634	258	218	159
Urée (g/l)	0,5	0,33		0,32	0,23	0,27
Créatinine (mg/l)	8	6		6	6	6
ADAMTS13 activité (%)	<10	81	<10	69	80	93
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	7	11	6	5	4	3
Test d'inhibition (%)	Pose 92%		Pose 84%	Neg		

Tableau 7: Profil biologique du patient 6

PATIENT 7 :

Histoire de la maladie

PTT diagnostiqué en décembre 2019, chez une patiente âgée de 37 ans qui consulte aux urgences devant l'apparition d'ecchymoses spontanées et céphalées associées à un déficit héli-corporel transitoire.

Le bilan biologique révèle une anémie hémolytique et une thrombopénie profonde, le diagnostic de PTT est confirmé par un dosage de l'activité ADAMTS13 <1% associé à un taux d'anticorps anti-ADAMTS13 inférieur au seuil de positivité et à une inhibition mesurée à 90%.

Les échanges plasmatiques associés au traitement immunosuppresseur (corticoïdes + rituximab) et au Caplacizumab ont été menés pendant 70 jours.

En septembre 2020, l'activité de l'ADAMTS13 a été mesurée à 72% associée à un test d'inhibition négatif.

Un traitement préemptif par Rituximab à dose unique a été administré en octobre 2021 dans un contexte de rechute biologique (ADAMTS13 < 10%, absence d'Ac, inhibition = 64%) sans stigmatisme biologique ni signe clinique.

Profils biologiques

Paramètre/date	12/2019	2020	2021	2022	08/2023
ADAMTS13 activité (%)	<10	72	2	62	29
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	15	3	15	5	5
Test d'inhibition (%)	Pose 90%		Pose 64%		

Tableau 8: Profil biologique du patient 7

PATIENT 8 :

Histoire de la maladie

PTTa diagnostiqué en septembre 2020 chez une patiente âgée de 23 ans et enceinte de 30 SA. Une semaine avant le diagnostic de PTTa, la patiente avait présenté une protéinurie associée à une HTA. L'HTA avait été traitée par Loxen. Les bilans biologiques réalisés ne montraient pas d'anomalies.

Une semaine plus tard, la patiente se plaint de douleurs épigastriques à type de crampes non soulagées par le paracétamol accompagnées de vomissements.

Un bilan biologique révèle une cytolyse hépatique justifiant alors un accouchement en urgence. Le bilan biologique réalisé montre une anémie hémolytique et une thrombopénie. La suspicion de PTT est confirmée par un dosage d'ADAMTS13 <1 %, sans anticorps retrouvés et associée une inhibition à 100%.

Le diagnostic retenu est celui d'un PTT avec atteinte hépatique et rénale en péri-partum.

L'évolution est favorable au cours du traitement associant les EP, traitement immunosuppresseur (corticoïdes + rituximab) et Caplacizumab.

La patiente est suivie depuis 2020 sans rechute.

Profil biologique

Paramètre/date	09/2020	2021	2022
Hémoglobine (g/dl)	8,8	13,4	13,5
Plaquettes (G/l)	54	265	247
Schizocytes (%)	Entre 1 et 2 %	<1	<1
Réticulocytes (G/l)	80	41	54
Haptoglobine (g/l)	Indosable		1,19
LDH (U/l)	1700	280	180
Urée (g/l)	0,94	0,42	0,31
Créatinine (mg/l)	18	6	6
ADAMTS13 Activité (%)	<1	100	94
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	2	5	3
Test Inhibition (%)	Pose 100%		

Tableau 9: Profil biologique en phase inaugurale du patient 8

PATIENT 9 :

Histoire de la maladie

Patient âgé de 53 ans hospitalisé au CH de Montauban, en février 2020 pour asthénie et ictère évoluant depuis une semaine.

Il a pour antécédents un adénocarcinome colique traité par colectomie droite puis chimiothérapie.

Le diagnostic de PTT est évoqué sur l'association d'une anémie hémolytique et d'une thrombopénie. Il est confirmé par le dosage de l'activité de l'ADAMTS13 <10%, sans anticorps associé. Le test d'inhibition n'avait pas été réalisé lors du diagnostic initial.

Le patient a bénéficié du traitement standard (EP+ corticoïdes + rituximab + Caplacizumab)

Le jour de la 3^e injection de Rituximab en mars 2020, exacerbation du PTT caractérisée par une thrombopénie profonde à 7G/l motivant la reprise des EP associés au traitement par Caplacizumab. On notait la présence d'un Ac anti-ADAMTS13 faiblement positif.

En octobre 2021, en déplacement à Arras, le patient consulte aux urgences pour une dyspnée à l'effort depuis 3 jours avec dysphonie et « gêne thoracique ». Le bilan réalisé met en évidence une thrombopénie à 37 G/l, une activité ADAMTS13 à 3%, sans Ac associés ni activité inhibitrice.

À l'examen clinique il n'est pas retrouvé de signes neurologiques, cardio-vasculaire, rénal ni abdominal.

L'évolution a été favorable, après l'introduction du traitement associant EP, corticoïdes, rituximab, Caplacizumab

Le patient a donc présenté une exacerbation et 2 rechutes. Pour ce patient, le profil est particulier dans la mesure où l'activité effondrée de l'ADAMTS13 était associée soit à la présence d'un anticorps de titre faible soit à la présence d'une inhibition à la limite de la significativité.

Profil biologique

Paramètre/date	02/2020	03/2020	10/2021	2022	2023
Hémoglobine (g/dl)	10,6	7,6	12,5	13,1	14,2
Plaquettes (G/l)	6	7	24	367	246
Schizocytes (%)	3 – 6		2	<1	<1
Réticulocytes (G/l)	400	417	102	127	88
Haptoglobine (g/l)	Indosable	Indosable	Indosable	1,24	0,97
LDH (U/l)	599	420	300	325	241
Urée (g/l)			0,47	0,28	0,27
Créatinine (mg/l)	12	11	11	12	10
ADAMTS13 activité (%)	<10	<5	3	69	39
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	Nég	36	13	3	6
Test d'inhibition (%)			Neg 33%		

Tableau 10: **Profil biologique du patient 9**

PATIENT 10 :

Histoire de la maladie

Patient âgé de 7 ans suivi pour une leucémie de Burkitt découverte en novembre 2020 compliquée d'une candidose hépatosplénique et d'une hypo-gammaglobuline post-Rituximab.

En décembre 2020 le patient est hospitalisé pour un syndrome occlusif et un sepsis d'origine digestive. Le bilan biologique met en évidence une cytolyse hépatique majeure, une anémie avec schizocytes et une thrombopénie ne répondant pas à la transfusion. Le diagnostic de PTT est confirmé avec un dosage d'ADAMTS13 à 4%, une inhibition positive à 95% sans Ac détectés.

Normalisation de l'ADAMTS13 après 21 jours de plasmaphérèses associées au rituximab seul. Le patient est suivi en hématologie pédiatrique, aucune rechute de PTT n'a été détectée à ce jour.

Paramètre / date	12/2020	12/2021
Hémoglobine (g/dl)	7,1	10
Plaquettes (G/l)	54	15
Schizocytes (%)	3 - 6	<1
Réticulocytes (G/l)	43	128
Haptoglobine (g/l)	0,26	
LDH (U/l)	2797	250
Urée (g/l)	0,67	0,45
Créatinine (mg/l)	3	2
ADAMTS13 activité (%)	<10	80
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	3	2
Test d'inhibition (%)	Pose 95%	Nég.

Tableau 11: Profil biologique du patient 10

PATIENT 11 :

Histoire de la maladie

Patient âgé de 54 ans en perte d'autonomie ayant comme antécédent un diabète de type 2 et une psychose chronique.

Une perte de poids 13 kg est notée depuis décembre 2020.

Diagnostic d'un PTTa en avril 2021, devant une bicytopénie associée à une insuffisance rénale aigüe. L'activité de l'ADAMTS13 est indosable, pas de détection d'Ac et un test d'inhibition positif à 100%. Malgré les EP, le patient décèdera le 26 avril.

Profil biologique

Paramètre/date	04/2021
Hémoglobine (g/dl)	9
Plaquettes (G/l)	22
Schizocytes (%)	2-3%
Réticulocytes (G/l)	/
Haptoglobine (g/l)	Indosable
LDH (U/l)	2788
Urée (g/l)	2,88
Créatinine (mg/l)	49,8
ADAMTS13 Activité (%)	<1
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	2
Test Inhibition (%)	Pose 100%

Tableau 12: Profil biologique du patient 11

PATIENT 12 :

Histoire de la maladie

PTTa diagnostiqué en aout 2022 chez une patiente âgée de 59 ans, dans un contexte de paralysie faciale gauche avec hémiparésie droite associée à une anémie hémolytique et à une thrombopénie. L'activité de l'ADAMTS13 est <10% sans anticorps associés, inhibition à 90%.

Prise en charge thérapeutique par EP+ corticoïdes + rituximab + Caplacizumab.

Aucune rechute n'a été constatée en aout 2023.

Profil biologique

Paramètre/date	08/2022	2023
Hémoglobine (g/dl)	9	12,9
Plaquettes (G/l)	41	373
Schizocytes (%)	Entre 6 et 11	<1
Réticulocytes (G/l)	249	56
Haptoglobine (g/l)	Indosable	2,47
LDH (U/l)	1397	247
Urée (g/l)	0,4	0,28
Créatinine (mg/l)	6,7	5
ADAMTS13 Activité (%)	6	73
Anti-ADAMTS13 Ac (U/ml)	8	4
Test Inhibition (%)	Pose 90%	

Tableau 13: **Profil biologique du patient 12**

Démographie		
Nombres de patients		12
Age au diagnostic		
	Médiane (IQ)	36,5 (29-53)
	Moyenne (ET)	40.8 (19,9)
Nombre de femmes, n (%)		8 (66,6)
Comorbidités		
Cancer		4
Maladies auto-immunes		0
Transplantation		0
Grossesse		1
Pathologies vasculaires		1
Signes cliniques associés à la maladie		
Neurologiques		6
Cardiaques		1
Cutanées		2
Rénales		2
Digestifs		4
Infectieux		3
Traitement		Diagnostic
EP, n		12
Médiane (IQ) du nombre d'EP/patient		4,5 (4-5)
Corticoïdes, n		12
Rituximab, n		7
Caplacizumab, n		4
Évolution		
Exacerbation, n (%)		4 (33,3)
Rechutes, nb de patients (%)		8 (66,6)
Rechutes par patient ayant rechuté : médiane (IQ)		3 (1,7- 4,2)
Décès, n		2
Suivi		
Suivi médian (IQ) (années)		4,5 (3 – 12)

Tableau 14: **Caractéristiques démographiques et cliniques des patients**

5 DISCUSSION

Depuis 1992, 74 diagnostics de PTTa ont été réalisés au laboratoire d'hémostase du CHU de Lille. Le laboratoire centralise les dosages de l'activité ADAMTS13 et des Ac anti-ADAMTS13 pour la région des hauts-de France

Le déficit en ADAMTS13, des patients atteints d'un PTTa est lié à la présence d'Ac anti-ADAMTS13 de type IgG qui inhibent la fonction de l'ADAMTS13 et/ ou qui augmentent sa clairance.

La détection des Ac anti-ADAMTS13 associée à une activité ADAMTS13 effondrée est fondamentale pour le diagnostic de PTTa. Cet Ac est dans la majorité des cas identifié par technique ELISA, s'il est inhibiteur, il est associé à un test d'inhibition positive. Chez certains patients, l'Ac anti-ADAMTS13 augmente la clairance d'un facteur 4 à 10 (60), il est dans ce cas associé à un test d'inhibition négatif.

Dans la cohorte lilloise des PTTa, nous avons une troisième catégorie de patients qui présentent une activité ADAMTS 13 effondrée, sans Ac détectés par la technique ELISA, mais associée à un test d'inhibition positif. Ce test d'inhibition n'est pas réalisé par tous les laboratoires français faisant le diagnostic de PTT. Il s'agit d'un test ancien qui a été abandonné au profit des tests ELISA, il est peu décrit dans la littérature récente. Au Japon, la recherche d'anticorps anti ADAMTS13 est toujours réalisée par un test d'inhibition de l'activité ADAMTS13 d'un plasma témoin par le plasma patient dilué, afin de déterminer le titre de l'Ac en unité Bethesda (61).

Comme attendu il existe une corrélation positive significative entre le titre des IgG anti ADAMTS13 en ELISA et le titre de l'Ac en unité Bethesda (62). Néanmoins, dans la cohorte japonaise de 195 patients, 12 patients présentent un test d'inhibition positif sans Ac associés (6.15%). Les auteurs émettant l'hypothèse qu'il pourrait

s'agir d'IgA ou d'IgM anti ADAMTS13, ont identifié une IgA dans 1 échantillon et une IgM dans 3 autres.

Dans notre population de 74 patients atteints d'un PTTa, nous avons identifié 12 patients (16.2%) présentant un test d'inhibition positif sans Ac identifiés en ELISA.

Seule l'inhibition a été mesurée, le titre des Ac en unités Bethesda n'a pas été défini.

Nous avons colligé les données de ces patients, le mode de présentation, l'évolution clinique et le mode de rechute éventuel.

Parmi les 12 patients identifiés, 8 étaient des femmes (66.6%), la médiane d'âge de survenue du PTT était de 36,5 ans. Bien que notre série de patients soit limitée, les caractéristiques démographiques et cliniques (incluant les comorbidités) de cette population apparaissent comparables aux données de la littérature des séries publiées (63) (64). Le mode de présentation de la maladie pour ces patients ne

diffère donc pas de la population générale des PTTa. La prise en charge thérapeutique du PTTa a évolué au fil des années, tous les patients ont bénéficié d'échanges plasmatiques et d'un traitement par corticoïdes, l'introduction du rituximab a permis de réduire les rechutes cliniques, et l'introduction du

Caplacizumab a permis de réduire la morbi-mortalité du PTTa (Coppo, Blood 2021).

Deux patients sont décédés des conséquences du PTT, le premier 5 ans après le diagnostic et le second à la phase inaugurale du PTT. Le délai médian de suivi est de 4.5 ans. Durant le suivi, le nombre de rechutes variait en fonction des patients et

de l'ancienneté du diagnostic, l'amélioration constante de la surveillance et des

traitements réduit la survenue des rechutes, et notamment l'introduction du rituximab à partir de 2010 qui, en permettant un traitement préemptif des patients réduit le risque de rechutes cliniques.

Nous avons également étudié le mode de rechute des 8 patients concernés.

Le diagnostic de PTT de la première patiente est très ancien, les modalités de diagnostic ont beaucoup évolué depuis, et notamment le mode de détection des Ac anti-ADAMTS13. A l'origine, il s'agissait de la technique de Bethesda avec dilution du plasma patient afin de titrer en Unités Bethesda les Ac anti ADAMTS13. Les premiers tests ELISA pour la recherche des Ac sont apparus vers la fin des années 2000 et ont évolué d'une détection des Ig totales (A, M et G) vers une détection des IgG seules. De plus, les trousse commerciales ELISA à disposition ont des performances variables en fonction de la conformation de l'ADAMTS13 recombinante coatée dans les microplaques et de la nature de l'Ac révélateur. L'ADAMTS13 doit être en conformation ouverte afin d'exposer les épitopes cryptiques (65). Les résultats en terme de concentration d'Ac dépendent de la nature de l'Ac de révélation qui doit détecter toutes les sous classes d'IgG (IgG₁₋₄) (66). En 2007 et 2008, la technique utilisée pour le titrage des Ac anti ADAMTS13 n'était pas précisée sur le compte rendu d'analyse. Pour les patients 1 et 2 un doute subsiste sur la nature de la technique (Bethesda ou ELISA) au regard du titre très élevé des Ac, ou sur le mode de détection des Ig (Ig totales ou IgG₁₋₄).

L'absence de détection des Ac inhibiteurs par notre technique ELISA pourrait être liée à l'absence d'exposition des épitopes d'intérêt par l'ADAMTS13 recombinante du kit ou à l'isotype de l'Ac anti ADAMTS13 du patient. Les éventuelles IgA et IgM anti ADAMTS13, ne sont pas détectés par notre kit ELISA.

Enfin, Il apparait que les rechutes observées surviennent sur le même mode, à savoir sans Ac détectés par technique ELISA. Notre technique d'inhibition présente donc un intérêt indiscutable lorsque les Ac anti-ADAMTS13 ne sont pas détectés par la technique ELISA dans plusieurs situations :

- A la phase inaugurale du PTT, afin de différencier rapidement un PTT acquis d'un PTT constitutionnel dans le but d'orienter la prise en charge thérapeutique vers le Caplacizumab ou l'ADAMTS13 recombinante (cf patient 6).
- A distance de l'épisode aigu, car la persistance des Ac anti-ADAMTS13 est associée avec un risque multiplié par 3 de rechute (67).
- A l'issue des consultations de suivi en néphrologie, la réalisation plus systématique du test d'inhibition afin de détecter une résurgence de l'inhibition, pourrait permettre d'anticiper une rechute de PTT lorsque que l'activité ADAMTS13 n'est pas encore effondrée.

Nous avons donc observé dans la cohorte lilloise de 74 PTTa, 12 patients présentant un test d'inhibition positif sans Ac détectés par technique ELISA. La présentation clinique de la maladie et les caractéristiques démographiques de ces patients ne diffèrent pas des données de la littérature. L'origine de cette discordance n'est pas connue, et pourrait être expliquée par l'absence de fixation de l'Ac anti ADAMTS13 du patient sur l'ADAMTS13 du kit ELISA, ou à l'isotype de cet Ac. Les patients présentant un tel profil le conservent au cours des rechutes ; le maintien de cette technique d'analyse au laboratoire est donc justifié.

Des études complémentaires de la conformation de l'ADAMTS13 des patients, ainsi que de la nature de l'Ig pourraient être réalisées afin de mieux expliquer cette discordance.

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1 : domaines espaceurs d'ADAMTS13 et d'autres protéases ADAMTS (3)</i>	13
<i>Figure 2: Conformation de l'ADAMTS13 (27)</i>	15
<i>Figure 3: Structure de VWF (30)</i>	17
<i>Figure 4: Modèle schématique illustrant les modifications conformationnelles du VWF induites en condition de forces de cisaillement élevées (34)</i>	18
<i>Figure 5: Site de clivage du VWF par l'ADAMTS13 (35)</i>	18
<i>Figure 6: Mécanismes physiopathologiques aboutissant à la formation de microthrombi dans le PTT (36)</i>	19
<i>Figure 7: Syndrome d'Upshaw-Schulman : répartition des mutations du gène d'ADAMTS13</i>	22
<i>Figure 8: Répartition des anticorps sur les différents domaines de l'ADAMTS13</i>	24
<i>Figure 9: Organigramme pour l'investigation ADAMTS13 dans le PTT (43)</i>	31
<i>Figure 10: Principe de la mesure d'activité d'ADAMTS13 avec le substrat FRETS-VWF73. FRET : Fluorescence Resonance Energy Transfer (50)</i>	33
<i>Figure 11: Principe de mesure de l'activité de l'ADAMTS13</i>	34
<i>Figure 12: Principe de mesure des anticorps anti-ADAMTS13</i>	37
<i>Figure 13: Mécanisme d'action du Caplacizumab (53)</i>	42
<i>Figure 14: Évolution du taux d'anticorps anti-ADAMTS13 du patient 1</i>	50

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1 : Fréquence des symptômes cliniques et biologique du PTT (47).....</i>	<i>28</i>
<i>Tableau 2: Profil biologique du patient 1</i>	<i>51</i>
<i>Tableau 3: Profil biologique du patient 2</i>	<i>57</i>
<i>Tableau 4: Profil biologique du patient 3</i>	<i>59</i>
<i>Tableau 5: Profil biologique du patient 4</i>	<i>61</i>
<i>Tableau 6: Profil biologique du patient 5</i>	<i>63</i>
<i>Tableau 7: Profil biologique du patient 6</i>	<i>65</i>
<i>Tableau 8: Profil biologique du patient 7</i>	<i>67</i>
<i>Tableau 9: Profil biologique en phase inaugurale du patient 8.....</i>	<i>69</i>
<i>Tableau 10: Profil biologique du patient 9</i>	<i>71</i>
<i>Tableau 11: Profil biologique du patient 10.....</i>	<i>72</i>
<i>Tableau 12: Profil biologique du patient 11.....</i>	<i>73</i>
<i>Tableau 13: Profil biologique du patient 12.....</i>	<i>74</i>
<i>Tableau 14: Caractéristiques démographiques et cliniques des patients.....</i>	<i>75</i>

BIBLIOGRAPHIE

1. Furlan M, Robles R, Solenthaler M, Lämmle B. Acquired deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 15 avr 1998;91(8):2839-46.
2. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature*. 4 oct 2001;413(6855):488-94.
3. pnds_ptt_26092022_final.pdf [Internet]. [cité 6 juin 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-10/pnds_ptt_26092022_final.pdf
4. Ercig B, Wichapong K, Reutelingsperger CPM, Vanhoorelbeke K, Voorberg J, Nicolaes GAF. Insights into 3D Structure of ADAMTS13: A Stepping Stone towards Novel Therapeutic Treatment of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Thromb Haemost*. janv 2018;118(1):28-41.
5. Zheng XL. Structure-function and regulation of ADAMTS13 protease. *J Thromb Haemost JTH*. juin 2013;11(0 1):11-23.
6. Lancellotti S, De Cristofaro R. Structure and proteolytic properties of ADAMTS13, a metalloprotease involved in the pathogenesis of thrombotic microangiopathies. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2011;99:105-44.
7. Ai J, Smith P, Wang S, Zhang P, Zheng XL. The Proximal Carboxyl-terminal Domains of ADAMTS13 Determine Substrate Specificity and Are All Required for Cleavage of von Willebrand Factor *. *J Biol Chem*. 19 août 2005;280(33):29428-34.
8. Gao W, Anderson PJ, Majerus EM, Tuley EA, Sadler JE. Exosite interactions contribute to tension-induced cleavage of von Willebrand factor by the antithrombotic ADAMTS13 metalloprotease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 12 déc 2006;103(50):19099-104.
9. de Groot R, Bardhan A, Ramroop N, Lane DA, Crawley JTB. Essential role of the disintegrin-like domain in ADAMTS13 function. *Blood*. 28 mai 2009;113(22):5609-16.
10. Xiang Y, de Groot R, Crawley JTB, Lane DA. Mechanism of von Willebrand factor scissile bond cleavage by a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 (ADAMTS13). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 12 juill 2011;108(28):11602-7.
11. Zheng X, Nishio K, Majerus EM, Sadler JE. Cleavage of von Willebrand Factor Requires the Spacer Domain of the Metalloprotease ADAMTS13 *. *J Biol Chem*. 8 août 2003;278(32):30136-41.
12. De maeyer B, De meyer SF, Feys HB, Pareyn I, Vandeputte N, Deckmyn H, et al. The distal carboxyterminal domains of murine ADAMTS13 influence proteolysis of platelet-decorated VWF strings in vivo. *J Thromb Haemost*. 1 oct 2010;8(10):2305-12.
13. Jin SY, Skipwith CG, Zheng XL. Amino acid residues Arg659, Arg660, and Tyr661 in the spacer domain of ADAMTS13 are critical for cleavage of von Willebrand factor. *Blood*. 18 mars 2010;115(11):2300-10.
14. Akiyama M, Takeda S, Kokame K, Takagi J, Miyata T. Crystal structures of the noncatalytic domains of ADAMTS13 reveal multiple discontinuous exosites for von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci*. 17 nov 2009;106(46):19274-9.
15. Pos W, Crawley JTB, Fijnheer R, Voorberg J, Lane DA, Luken BM. An autoantibody epitope comprising residues R660, Y661, and Y665 in the ADAMTS13 spacer domain identifies a binding site for the A2 domain of VWF. *Blood*. 25 févr 2010;115(8):1640-9.
16. Zheng XL. Structure-function and regulation of ADAMTS13 protease. *J Thromb Haemost JTH*. juin 2013;11(0 1):11-23.
17. Zanardelli S, Chion ACK, Groot E, Lenting PJ, McKinnon TAJ, Laffan MA, et al. A

- novel binding site for ADAMTS13 constitutively exposed on the surface of globular VWF. *Blood*. 24 sept 2009;114(13):2819-28.
18. Asch AS, Silbiger S, Heimer E, Nachman RL. Thrombospondin sequence motif (CSVTCG) is responsible for CD36 binding. *Biochem Biophys Res Commun*. 14 févr 1992;182(3):1208-17.
 19. Vomund AN, Majerus EM. ADAMTS13 Bound to Endothelial Cells Exhibits Enhanced Cleavage of von Willebrand Factor *. *J Biol Chem*. 6 nov 2009;284(45):30925-32.
 20. Deforche L, Roose E, Vandembulcke A, Vandeputte N, Feys HB, Springer TA, et al. Linker regions and flexibility around the metalloprotease domain account for conformational activation of ADAMTS-13. *J Thromb Haemost*. 1 nov 2015;13(11):2063-75.
 21. Verbij FC, Stokhuijzen E, Kaijen PHP, van Alphen F, Meijer AB, Voorberg J. Identification of glycans on plasma-derived ADAMTS13. *Blood*. 24 nov 2016;128(21):e51-8.
 22. Nowak AA, O'Brien HER, Henne P, Doerr A, Vanhoorelbeke K, Laffan MA, et al. ADAMTS-13 glycans and conformation-dependent activity. *J Thromb Haemost*. 1 juin 2017;15(6):1155-66.
 23. Shang D, Zheng XW, Niiya M, Zheng XL. Apical sorting of ADAMTS13 in vascular endothelial cells and Madin-Darby canine kidney cells depends on the CUB domains and their association with lipid rafts. *Blood*. 1 oct 2006;108(7):2207-15.
 24. Guo C, Tsigkou A, Lee MH. ADAMTS13 and 15 are not regulated by the full length and N-terminal domain forms of TIMP-1, -2, -3 and -4. *Biomed Rep*. 1 janv 2016;4(1):73-8.
 25. Luan Y, Kong L, Howell DR, Ilalov K, Fajardo M, Bai XH, et al. Inhibition of ADAMTS-7 and ADAMTS-12 degradation of cartilage oligomeric matrix protein by alpha-2-macroglobulin. *Osteoarthritis Cartilage*. 1 nov 2008;16(11):1413-20.
 26. Ercig B, Arfman T, Hrdinova J, Wichapong K, Reutelingsperger CPM, Vanhoorelbeke K, et al. Conformational plasticity of ADAMTS13 in hemostasis and autoimmunity. *J Biol Chem*. 27 août 2021;297(4):101132.
 27. Roose E, Schelpe AS, Joly BS, Peetermans M, Verhamme P, Voorberg J, et al. An open conformation of ADAMTS-13 is a hallmark of acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. 2018;16(2):378-88.
 28. Roose E, Schelpe AS, Tellier E, Sinkovits G, Joly BS, Dekimpe C, et al. Open ADAMTS13, induced by antibodies, is a biomarker for subclinical immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 16 juill 2020;136(3):353-61.
 29. Nicolas Beranger - Physiopathologie du PTT.pdf [Internet]. [cité 31 août 2023]. Disponible sur: <https://www.hemapherese.fr/new/uploads/documents/diapos21-b/09h00%20-%2009h25%20Nicolas%20Beranger%20-%20Physiopathologie%20du%20PTT.pdf>
 30. Miyata T. Autoantibody-resistant ADAMTS13 variant. *Blood*. 13 mai 2021;137(19):2575-6.
 31. Sadler JE. Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 7 sept 2017;130(10):1181-8.
 32. Bryckaert M, Rosa JP, Denis CV, Lenting PJ. Of von Willebrand factor and platelets. *Cell Mol Life Sci*. 1 janv 2015;72(2):307-26.
 33. Wagner DD, Olmsted JB, Marder VJ. Immunolocalization of von Willebrand protein in Weibel-Palade bodies of human endothelial cells. *J Cell Biol*. 1 oct 1982;95(1):355-60.
 34. Karampini E, Bürgisser PE, Olins J, Mulder AA, Jost CR, Geerts D, et al. Sec22b determines Weibel-Palade body length by controlling anterograde endoplasmic reticulum-Golgi transport. *Haematologica*. 26 mars 2020;106(4):1138-47.
 35. Savage B, Sixma JJ, Ruggeri ZM. Functional self-association of von Willebrand factor during platelet adhesion under flow. *Proc Natl Acad Sci*. 8 janv 2002;99(1):425-30.
 36. Sadler JE. Biochemistry and Genetics of Von Willebrand Factor. *Annu Rev Biochem*. 1998;67(1):395-424.

37. Joly BS, Stepanian A, Coppo P, Veyradier A. Exploration d'ADAMTS13 dans le purpura thrombotique thrombocytopenique. *Rev Francoph Lab.* 1 juill 2017;2017(494):33-40.
38. Coppo P, Veyradier A. Microangiopathies thrombotiques : physiopathologie, diagnostic et traitement. *Réanimation.* nov 2005;14(7):594-603.
39. Valérie LC. Purpura thrombotique thrombocytopenique- Exploration d'ADAMTS-13. 2022;
40. Roux AF. ANPGM_127- syndrome d'Upshaw Schulman (USS).
41. Joly BS, Boisseau P, Roose E, Stepanian A, Biebuyck N, Hogan J, et al. ADAMTS13 Gene Mutations Influence ADAMTS13 Conformation and Disease Age-Onset in the French Cohort of Upshaw–Schulman Syndrome. *Thromb Haemost.* nov 2018;118(11):1902-17.
42. Tsai HM, Raoufi M, Zhou W, Guinto E, Grafos N, Ranzurmal S, et al. ADAMTS13-binding IgG are present in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost.* mai 2006;95(5):886-92.
43. Ferrari S, Mudde GC, Rieger M, Veyradier A, Kremer hovinga JA, Scheiflinger F. IgG subclass distribution of anti-ADAMTS13 antibodies in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost.* 1 oct 2009;7(10):1703-10.
44. Yamaguchi Y, Moriki T, Igari A, Nakagawa T, Wada H, Matsumoto M, et al. Epitope analysis of autoantibodies to ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res.* 1 août 2011;128(2):169-73.
45. Sukumar S, Lämmle B, Cataland SR. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *J Clin Med.* janv 2021;10(3):536.
46. Scully M, Brown J, Patel R, McDonald V, Brown CJ, Machin S. Human leukocyte antigen association in idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: evidence for an immunogenetic link. *J Thromb Haemost.* 1 févr 2010;8(2):257-62.
47. Joly BS, Coppo P, Veyradier A. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 25 mai 2017;129(21):2836-46.
48. Chiasakul T, Cuker A. Clinical and laboratory diagnosis of TTP: an integrated approach. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program.* 30 nov 2018;2018(1):530-8.
49. Coppo P, Schwarzingler M, Buffet M, Wynckel A, Clabault K, Presne C, et al. Predictive Features of Severe Acquired ADAMTS13 Deficiency in Idiopathic Thrombotic Microangiopathies: The French TMA Reference Center Experience. *PLoS ONE.* 23 avr 2010;5(4):e10208.
50. George JN, Nester CM. Syndromes of Thrombotic Microangiopathy. *N Engl J Med.* 14 août 2014;371(7):654-66.
51. Veyradier A, Meyer D. Thrombotic thrombocytopenic purpura and its diagnosis. *J Thromb Haemost.* nov 2005;3(11):2420-7.
52. Mackie I, Mancini I, Muia J, Kremer Hovinga J, Nair S, Machin S, et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of ADAMTS13. *Int J Lab Hematol.* 2020;42(6):685-96.
53. Roux AF. ANPGM_127- syndrome d'Upshaw Schulman (USS).
54. Vigneron C, Hertig A. Micro-angiopathies thrombotiques du péripartum : physiopathologie, diagnostic et traitement. *Médecine Intensive Réanimation [Internet].* 8 juill 2017 [cité 18 juill 2023]; Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s13546-017-1287-7>
55. Elverdi T, Eskazan AE. <p>Caplacizumab as an emerging treatment option for acquired thrombotic thrombocytopenic purpura</p>. *Drug Des Devel Ther.* 17 avr 2019;13:1251-8.
56. Joly BS, Coppo P, Veyradier A. Pediatric thrombotic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol.* 2018;101(4):425-34.
57. Scully M, Knöbl P, Kentouche K, Rice L, Windyga J, Schneppenheim R, et al. Recombinant ADAMTS-13: first-in-human pharmacokinetics and safety in congenital

- thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 9 nov 2017;130(19):2055-63.
58. Kleinveld DJB, Simons DDG, Dekimpe C, Deconinck SJ, Sloos PH, Maas MAW, et al. Plasma and rhADAMTS13 reduce trauma-induced organ failure by restoring the ADAMTS13-VWF axis. *Blood Adv*. 14 sept 2021;5(17):3478-91.
59. Cuker A, Cataland SR, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, George JN, et al. Redefining outcomes in immune TTP: an international working group consensus report. *Blood*. 8 avr 2021;137(14):1855-61.
60. Underwood MI, Alwan F, Thomas MR, Scully MA, Crawley JTB. Autoantibodies enhance ADAMTS-13 clearance in patients with immune thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*. 1 juin 2023;21(6):1544-52.
61. Vendramin C, Thomas M, Westwood JP, Scully M. Bethesda Assay for Detecting Inhibitory Anti-ADAMTS13 Antibodies in Immune-Mediated Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *TH Open Companion J Thromb Haemost*. 26 sept 2018;2(3):e329-33.
62. Sakai K, Matsumoto M, De Waele L, Dekimpe C, Hamada E, Kubo M, et al. ADAMTS13 conformation and immunoprofiles in Japanese patients with immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Adv*. 10 janv 2023;7(1):131-40.
63. Joly BS, Roose E, Coppo P, Vanhoorelbeke K, Veyradier A. ADAMTS13 conformation is closed in non-immune acquired thrombotic thrombocytopenic purpura of unidentified pathophysiology. *Haematologica*. 28 avr 2022;108(2):638-44.
64. Adeyemi A, Razakariasa F, Chiorean A, de Passos Sousa R. Epidemiology, treatment patterns, clinical outcomes, and disease burden among patients with immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura in the United States. *Res Pract Thromb Haemost*. 16 sept 2022;6(6):e12802.
65. Roose E, Vidarsson G, Kangro K, Verhagen OJHM, Mancini I, Desender L, et al. Anti-ADAMTS13 Autoantibodies against Cryptic Epitopes in Immune-Mediated Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Thromb Haemost*. oct 2018;118(10):1729-42.
66. Dekimpe C, Roose E, Kangro K, Bonneze Q, Vandenbulcke A, Tellier E, et al. Determination of anti-ADAMTS-13 autoantibody titers in ELISA: Influence of ADAMTS-13 presentation and autoantibody detection. *J Thromb Haemost JTH*. sept 2021;19(9):2248-55.
67. Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, Feys HB, Vanhoorelbeke K, Battaglioli T, et al. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica*. févr 2008;93(2):232-9.

AUTEUR(E) : Nom : TALEB

Prénom : Cheymaa

Date de soutenance : 22 septembre 2023

Titre de la thèse : Caractéristiques clinico-biologiques des patients atteints d'un Purpura Thrombotique Thrombocytopénique acquis sans identification de l'anticorps anti ADAMTS13 par technique ELISA mais associé à un test d'inhibition positif.

Thèse - Médecine - Lille 2023

Cadre de classement : hémostasie

DES + FST/option : Biologie médicale, option immunohématologie

Mots-clés : Purpura thrombotique thrombocytopénique, ADAMTS13, Auto-anticorps anti ADAMTS13

Résumé :

Contexte : Le diagnostic d'un Purpura Thrombotique Thrombocytopénique acquis (PTTa) repose sur un dosage effondré (<10%) de l'activité de l'ADAMTS13 (A Disintegrin And Metalloprotease with ThromboSpondin type 1 repeats, member 13) associé à la présence d'un AC anti-ADAMTS13. Ces Ac sont soit des Ac inhibiteurs, soit des Ac qui augmentent la clairance de l'ADAMTS13. La recherche de cet Ac peut se faire soit par technique ELISA qui détecte les IgG polyclonales anti ADAMTS13, soit par technique d'inhibition qui mesure l'activité inhibitrice du plasma du patient. Si les Ac sont inhibiteurs ils sont alors également détectés par technique ELISA. Dans la cohorte lilloise des PTTa, nous avons une troisième catégorie de patients, caractérisée par une activité ADAMTS 13 effondrée, sans Ac détectés par la technique ELISA, mais associée à un test d'inhibition positive. Au cours de ce travail, nous avons repris les dossiers de ces patients (ADAMTS13 effondrée, ELISA négatif, Test d'inhibition positif) afin de détailler les circonstances d'apparition de la maladie, l'évolution au cours du traitement et les modes de rechutes.

Méthode : Le laboratoire d'hémostasie du CHU de Lille réalise les analyses diagnostiques de PTT pour la région des hauts de France. Nous avons repris les diagnostics de PTTa réalisés entre 1992 et 2022, afin d'identifier les patients présentant un PTTa caractérisé au diagnostic par un test d'inhibition positif sans détection de l'anticorps par technique ELISA. L'ensemble des données cliniques, biologiques, les traitements reçus, l'évolution du PTT et le profil de rechute ont été analysés.

Résultats : Entre 1992 et 2022, 74 patients ont présenté un PTTa. Pour 12 patients (16.2%), le caractère acquis du PTT a été identifié en raison d'un test d'inhibition positif et en l'absence d'Ac détectés par le test ELISA. La médiane d'âge de survenue du PTT était de 36,5 ans (29-53). Deux patients sont décédés des conséquences du PTT. Le délai médian de suivi est de 4.5 ans (3-12). L'épidémiologie, l'évolution clinique, et les conséquences de la maladie pour cette population semblent conformes aux données de la littérature. Enfin, lors des rechutes, le test d'inhibition reste positif, sans Ac identifiés par technique ELISA.

Conclusion : Nous avons donc observé dans la cohorte lilloise de 74 PTTa, 12 patients présentant un PTTa avec test d'inhibition positif sans Ac détectés par technique ELISA. L'origine de cette discordance n'est pas connue, et pourrait être expliquée par l'absence de fixation de l'Ac anti ADAMTS13 du patient sur l'ADAMTS13 du kit ELISA, ou à l'isotype de cet Ac. Les patients présentant un tel profil le conservent au cours des rechutes ; le maintien de cette technique d'analyse au laboratoire est donc justifié.

Composition du Jury :

Président : Professeure Sophie SUSEN

Asseseurs : Professeure Annabelle DUPONT ; Docteur François PROVOT

Directeur de thèse : Docteur Anne BAUTERS