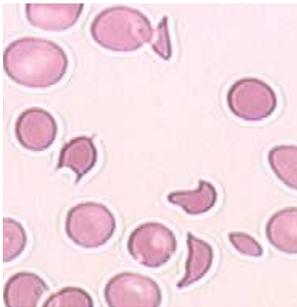


Compte rendu de la cinquième réunion du CNR-MAT



**Maison de l'Amérique Latine
Paris - 19 octobre 2012**



Etaient présents:

Allard Julien, Alves Mickael, Bachet Audrey, Barbet Christelle, Bengoufa Djaouida, Bijou Fontanet, Bonmarchand Guy, Bordessoule Dominique, Brivet François, Buffet Marc, Bussel Annette, Caillard-Ohlmann Sophie, Capdenat Sophie, Chantepie Sylvain, Chatelet Valérie, Coindre Jean-Philippe, Coppo Paul, Da Silva Sandra, Daguindau Nicolas, Daubin Cédric, De Prost Dominique, Delmas Yahsou, Deroux Alban, Devidas Alain, Dupuis Michel, Fohrer Cécile, Froissart Antoine, Galicier Lionel, Garot Denis, Gendre Steven, Gilardin Laurent, Girault Stéphane, Grange Steven, Halimi Jean-Michel, Helley-Russik Dominique, Hertig Alexandre, Jacobs Frédéric, Jason Moïse, Kanouni Tarik, Kaplanski Gilles, Landais Mickael, Laskri Djamila, Lautrette Alexandre, Loirat Chantal, Malot Sandrine, Maury Eric, Mazabraud Philippe, Mousson Christiane, Ojeda-Uribe Mario, Ouchenir Abdelkader, Peffault de la Tour Régis, Peltier Julie, Pène Frédéric, Pinquier Annie, Poullin Pascale, Pouplard Claire, Pourrat Jacques, Pouteil-Noble Claire, Presne Claire, Provôt François, Repesse Yohann, Rispal Christophe, Rollin Jérôme, Rondeau Eric, Saheb Samir, Savigny Sylvaine, Stépanian Alain, Thouzeau Sandrine, Vernant Jean-Paul, Veyradier Agnès, Voisin Sophie, Wolf Martine, Wynckel Alain.

Sommaire

Programme	3
Bilan d'activité de l'année passée :	4
Présentation des résultats préliminaires de l'étude PTTRitux2	6
Rupture de la tolérance du système immunitaire vis-à-vis d'ADAMTS13 dans le PTT acquis : premiers résultats.....	9
Dosage de l'activité ADAMTS13 en France et bonnes pratiques : enquête nationale.....	10
Rôle des anticorps dans l'activation de l'endothélium au cours du PTT acquis: résultats préliminaires	13
Quelles perspectives pour l'utilisation d'une cascade de filtration chez les malades les plus graves?.....	13
Peut-on appliquer la stratégie « Pick a winner » dans les MAT pour accroître le nombre de nouveaux schémas thérapeutiques à évaluer ?	15
Evaluation de l'intérêt du manganèse dans les diarrhées STEC+ pour prévenir l'évolution vers un SHU/limiter la sévérité du SHU : projet Mangashu.....	17
Evaluation de l'intérêt de l'éculizumab au cours des MAT de l'allogreffé : projet Soligreffé	20
Safety /tolerance of plasma inactivated by Amotosalen®: study proposal.....	22
Projet MAT grossesse	24
Etude pilote sur la vasculocompétence chez les patients recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques	26
Centres partenaires composant le CNR-MAT:	27

Programme

10h45 – 11h00. Accueil – Introduction (P. Coppo)

Travaux en cours :

11h00 – 11h30. PTTRitux2 : analyse préliminaire (M. Buffet, Saint-Antoine)

11h30 – 12h00. Rupture de la tolérance du système immunitaire vis-à-vis d'ADAMTS13 dans le PTT acquis (L. Gilardin, Institut de Recherche des Cordeliers)

12h00 – 12h30. Dosage de l'activité ADAMTS13 en France et bonnes pratiques : enquête nationale (A. Veyradier, Bécélère/Bicêtre)

Déjeuner

13h30 – 14h00. L'Association MAT ADAMTS13 (S. Corset)

Projets :

14h00 – 14h30. Rôle des anticorps dans l'activation de l'endothélium au cours du PTT acquis : résultats préliminaires. Quelles perspectives pour l'utilisation d'une cascade de filtration chez les malades les plus graves ? (P. Poullin/G. Kaplanski, Marseille)

14h30 – 15h00. Peut-on appliquer la stratégie « Pick a winner » dans les MAT pour accroître le nombre de nouveaux schémas thérapeutiques à évaluer? (P. Coppo, Saint-Antoine)

15h00 – 15h30. Evaluation de l'intérêt du manganèse dans les diarrhées STEC+ pour prévenir l'évolution vers un SHU/limiter la sévérité du SHU : projet Mangashu (P. Galichon/A. Hertig, Tenon)

15h30 – 16h00. Evaluation de l'intérêt de l'éculizumab au cours des MAT de l'allogreffé : projet Soligrefe (R. Peffault Delatour, Saint-Louis)

16h00 – 16h30. Safety /tolerance of plasma inactivated by Amotosalen[®]: study proposal (L. Corash, Cerus, USA)

Pause

17h00 – 17h30. Projet MAT grossesse (Julie Peltier, Tenon/Yahsou Delmas, Bordeaux)

17h30 – 18h00. Etude pilote sur la vasculocompétence chez les patients recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (L. Gilardin, Institut de Recherche des Cordeliers)

Bilan d'activité de l'année passée :

Activité scientifique:

Etudes publiées :

- Facteurs pronostiques dans le PTT acquis (*Haematologica*)
- Traitements de sauvetage par Splénectomie et cyclophosphamide (*Transfusion*)
- MAT chez sujet infecté par le VIH (*Revue de Médecine Interne*)
- Etude des PTT chez la femme enceinte (*Blood*)
- Pronostic des MAT (idiopathiques ou non) (*Intensive Care Med*)
- Microangiopathies thrombotiques: physiopathologie et traitement (*Revue du Praticien*)

Travaux en cours de rédaction/soumission :

- Etude rétrospective des patients ayant reçu du rituximab en prophylaxie
- Gènes de susceptibilité impliqués dans le PTT acquis (80 patients) (P. Loiseau/R. Tamouza/P. Coppo)
 - TLR2, TLR4, TLR9, MYD88
 - TNF α , IFN γ , IL6, IL10, TGF β , IL-4 et IL-4R
- Etude des MAT avec activité ADAMTS13 détectable (Q. Raimbourg, Tenon)
- Facteurs déclenchants infectieux au cours des MAT (M. Levieil, Saint-Antoine)
- Evaluation du plasma bleu de méthylène dans le PTT acquis (M. Hacquard/L. Chevreux/T. Schneider, Nancy)

Etudes en cours :

- Thromboses au cours des MAT (G. Sauvetre, Rouen)
- Caractéristiques cliniques et gènes de susceptibilité dans le PTT du sujet noir
- Valeur pronostique des sous-classes d'immunoglobuline (collaboration Baxter Inc.)
- Conséquences des transfusions plaquettaires au cours des PTT
- Incidence des maladies systémiques/survenue/évolution dans le PTT : comment les surveiller ? (M. Roriz, M. Landais, J. Desprez)
- Valeur pronostique de la troponine au diagnostic au cours des PTT acquis

Protocoles en cours/à venir :

- Mécanismes de la rupture de la tolérance du système immunitaire v/v d'ADAMTS13
- Intérêt de l'éculizumab au cours des MAT des allogreffes de CSH
- Démembrement des MAT au cours de la grossesse
- Evaluation de l'intérêt du manganèse dans les diarrhées STEC+ pour prévenir l'évolution vers un SHU/limiter la sévérité du SHU : projet Mangashu
- Etude pilote sur la vasculocompétence chez les patients recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (L. Gilardin, Institut de Recherche des Cordeliers)

Le registre : ~ 1350 cas

- Exhaustivité estimée à > 80% pour les MAT idiopathiques (PTT, SHU, autres)

2 portes d'entrée possibles :

- Patients signalés à Sandrine Malot ;
- Demandes d'exploration d'ADAMTS13 : Laboratoire d'Agnès Veyradier

Améliorer l'exhaustivité du suivi et limiter les perdus de vue :

Devenir des patients, histoire naturelle (autoimmunité), fréquence des rechutes ;

Devenir des patientes en âge de procréer+++
Evolution des patients traités par rituximab

- Suggestion : mettre en copie des courriers de consultation Sandrine Malot+++ (Service d'Hématologie ; Hôpital Saint-Antoine - Paris)

Présentation des résultats préliminaires de l'étude PTTRitux2

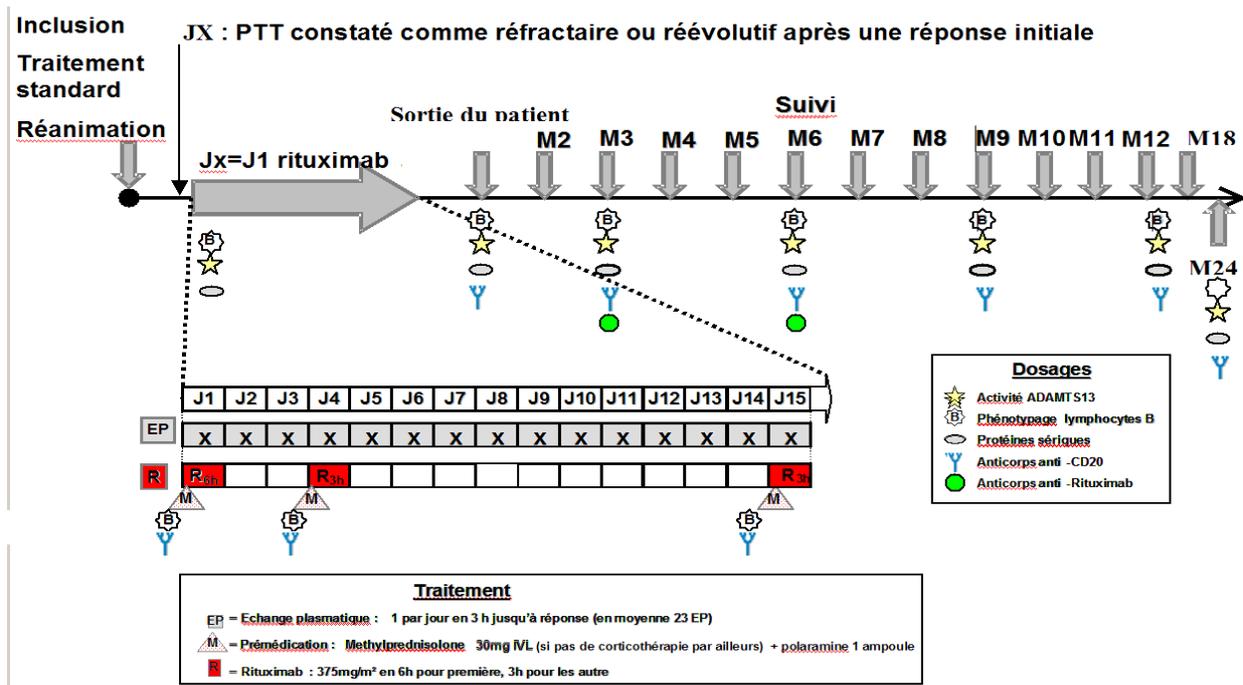
Marc Buffet, Saint-Antoine, Paris

Utilisation du rituximab dans le PTT acquis chez les patients en réponse suboptimale avec un schéma adapté à la déplétion lymphocytaire B

Cette étude fait suite à l'étude PTTRitux1 qui testait un schéma de 4 injections de rituximab rapprochées (J1 – J4 – J8 – J15) chez les patients atteints de PTT en réponse suboptimale (absence de réponse à J5, après 4 jours de traitement pleins, ou survenue d'un épisode de ré-évolutivité dans les 15 premiers jours de traitement standard) en association aux échanges plasmatiques. Vingt et un patients étaient comparés à une cohorte historique de 53 patients. Cette étude a montré que le rituximab permet de raccourcir la durée du traitement par EP, avec une normalisation du taux de plaquettes avant J35 chez tous les patients (on n'observe ainsi plus de répondeurs lents). Le deuxième résultat est que le rituximab permet de prévenir les rechutes durant 12 à 18 mois. Au plan biologique, le rituximab permet d'obtenir une déplétion lymphoïde B complète et rapide (en quelques jours, en général à J8) malgré la réalisation d'EP quotidiens, avec une bonne tolérance. Cependant, à la reconstitution immune B, des rechutes apparaissent. Ensuite, l'efficacité du rituximab n'est pas immédiate, et requiert en moyenne 12 jours. Ainsi, le tableau de PTT peut persister quelques jours (et peut même encore s'aggraver) après que le traitement par rituximab ait été introduit. Enfin, ce travail montre clairement que l'activité ADAMTS13 remonte plus vite après un traitement par rituximab.

Devant de la déplétion complète en lymphocytes B à J8, la stratégie suivante a été d'évaluer un schéma thérapeutique comportant le nombre de perfusions de rituximab nécessaires pour obtenir une déplétion complète en lymphocytes B circulants. Ce schéma thérapeutique a consisté à réaliser 2 perfusions de rituximab à J1 et J4, puis une troisième perfusion à J15 selon la persistance ou pas de lymphocytes B détectables à J14 (Etude PTTRitux2). **L'objectif principal** a donc été de montrer que **ce schéma d'administration du rituximab est comparable** au schéma rituximab 375 mg/m²/jour à J1, J4, J8 et J15, avec comme **critère de jugement principal** l'étude du délai de normalisation du taux de plaquettes et de la fréquence des rechutes à 2 ans.

Les **objectifs secondaires** étaient d'évaluer la cinétique de la déplétion et de la reconstitution en lymphocytes B (totaux, mémoires et naïfs), la cinétique de remontée de l'activité d'ADAMTS13, la tolérance du rituximab, et la circulation des anticorps anti-CD20.



Résultats :

21 patients ont été traités selon ce schéma (12 inclus dans le protocole PTTRitux2 et 9 traités selon). Trois patients n'ont pas encore atteint le suivi à 12 mois, 1 avait reçu du rituximab pour un PTT sévère 18 mois avant de rechuter, 3 patients sont décédés précocement avec un PTT non contrôlé. Au total, l'étude intermédiaire avec 12 mois de suivi porte sur 14 patients (R2) qui ont été comparés aux patients de PTTRitux1 traités par rituximab (R1) ou non (R-).

Les groupes étaient comparables à l'admission, en dehors d'une surreprésentation de patients afro-antillais dans le groupe R2. Une patiente est décédée des séquelles d'un PTT grave après 5 mois de suivi, alors que le PTT était en rémission. Tous les patients du groupe R2 ont normalisé leur taux de plaquettes, avec un délai moyen de 20+/-7 jours, ce qui a nécessité un volume moyen de plasma de 970±460 mL/kg, sans différence significative avec les groupes R1 et R-.

Le délai moyen entre la première injection de rituximab et la normalisation des plaquettes a été de 11+/-7 jours, versus 12+/-6.7 dans le groupe R1. Tous les patients ont normalisé leur taux de plaquettes avant le 35^e jour (comme dans le groupe R1), versus 77% dans le groupe R- (p=0.058). Aucune rechute n'est survenue durant la première année, mais 2 patients ont rechuté après 18 mois. La lymphopénie B profonde et précoce (dès le 4^e jour) est similaire entre les groupes R1 et R2 et se corrige à partir du 12^e mois. A J14, 78% des patients R2 ont un taux de CD19 <1%. Concernant l'activité d'ADAMTS13, celle-ci était significativement plus élevée à 3, 6, 9 et 12 mois dans le groupe R2 (p<0,02; p<0,05; p<0.01 et p<0,05 respectivement) que dans le groupe R-. Par contre, l'activité ADAMTS13 était similaire entre R1 et R2 à tous les temps de mesure.

Le rituximab a été bien toléré chez tous les malades, la grande majorité des événements notés étant en rapport avec le PTT, les voies d'abords et les échanges plasmatiques. Il n'y a pas eu de surcroît d'infections.

En conclusion, ce schéma adapté à la déplétion lymphocytaire B avec 2 ou 3 perfusions de rituximab semble aussi efficace à 1 an qu'avec 4 injections :

La proposition compte tenu de ces résultats est d'opter pour un schéma de 3 injections de rituximab (J1, J4, et J8 ou J15), plus simple que celui proposé généralement de 4 injections, sans effectuer de phénotypage lymphocytaire systématique.

Rupture de la tolérance du système immunitaire vis-à-vis d'ADAMTS13 dans le PTT acquis : premiers résultats

Laurent Gilardin, Institut de Recherche des Cordeliers, Paris

Le Purpura Thrombotique Thrombocytopénique acquis (PTT) est une maladie auto-immune provoquée par des auto-anticorps responsables d'un déficit en ADAMTS13 (A13). Il est associé à certains haplotypes HLA, en particulier l'haplotype HLA DRB1*11.

Ce projet de recherche a débuté en Novembre 2011, par l'identification des épitopes T immunodominants d'ADAMTS13. La première étape a consisté en l'étude *in silico* de la séquence de la protéine (1427 acides aminés) à l'aide du site web IEDB (www.immuneepitope.org). Ce logiciel « découpe » la protéine en peptides chevauchants de 15 acides aminés et calcule un score prédictif d'affinité pour chaque peptide pour la molécule HLA de classe II DRB1*11:01. Ainsi, une quarantaine de groupes de peptides ont été identifiés. Au sein d'un même groupe de peptides, les meilleurs ont été sélectionnés. Au total, il a été établi, pour A13, une liste de 48 peptides possédant le meilleur score prédictif théorique d'affinité à la molécule HLA DRB1*11:01.

Ces peptides ont été synthétisés avec une pureté de 80% et des tests ELISAs compétitifs ont permis d'évaluer *in vitro*, leur liaison avec la molécule HLA-DRB1*11:01, en collaboration avec le Dr B. Maillère (CEA, Saclay). Dans ces expériences de compétition, la capacité de chaque peptide à déplacer la fixation d'un peptide de référence à la molécule HLA est mesurée de manière dose-dépendante. La concentration conduisant à un déplacement de 50% (IC50) du peptide de référence est alors comparée et indique l'affinité du peptide testé. A partir des 48 peptides identifiés *in silico*, nous avons pu déterminer que 7 peptides possèdent une IC50 meilleure que celle du peptide de référence et globalement 21 peptides possèdent une « bonne » affinité.

En parallèle, ces peptides ont été évalués pour leur capacité à être reconnus par les lymphocytes T CD4+ (lyT4) d'individus sains et de patients atteints de PTT d'haplotype HLA DRB1*11:01. Pour cela, les lyT4 circulants sont triés par billes magnétiques puis des lignées sont obtenues après une amplification non spécifique. Après 15 jours de culture, les lyT4 sont testés pour leur spécificité antiA13 après stimulation par des monocytes autologues, chargés avec de la protéine ADAMTS13 recombinante. La protéine ADAMTS13 recombinante a été fournie par Baxter® dans le cadre d'un MTA. L'étude de la prolifération des lyT4 par l'incorporation de Thymidine tritiée radioactive en présence de ces monocytes chargés et en l'absence d'antigène, permet de sélectionner les lignées de lyT4 spécifiques anti-ADAMTS13. Ces lignées sont alors amplifiées et de nouveaux tests de prolifération en présence des peptides sélectionnés préalablement sont réalisés. Les peptides responsables d'une prolifération significative sont identifiés comme étant immunodominants.

Au total, les résultats préliminaires ont permis d'identifier plusieurs peptides immunodominants chez des individus HLA DRB1*11. La stratégie utilisée est confortée par les résultats obtenus par une autre équipe, utilisant une approche différente, qui a retrouvé également ces 2 peptides. Actuellement, ces résultats sont en cours de validation sur un plus grand échantillon de patients au diagnostic et en rémission.

Grâce à ces résultats, des complexes tétramères/peptides seront développés permettant d'étudier les populations lymphocytaires T CD4+ spécifiques d'A13 directement, sans manipulation préalable. Une étude longitudinale chez les patients atteints de PTT précisant la nature et les propriétés de ces lyT4 sera alors réalisée.

Dosage de l'activité ADAMTS13 en France et bonnes pratiques : enquête nationale

Agnès Veyradier, Hôpital Bécclère, Clamart / Inserm U770, Bicêtre

Après avoir présenté un rappel sur la découverte d'ADAMTS13 et l'historique de son étude en France, Agnès Veyradier a présenté les résultats d'une étude ayant eu pour objectif d'évaluer les avantages et limites des différentes techniques de dosage de l'activité d'ADAMTS13 utilisées en France. Le laboratoire ADAMTS13 du CNR-MAT a développé depuis 1999 une expertise unique dans le domaine de l'étude d'ADAMTS13. Ce laboratoire comprend 3 antennes : le service d'hématologie biologique du Pr Veyradier à l'hôpital Bécclère (hôpitaux universitaires Paris-Sud), l'unité Inserm U770 au Kremlin Bicêtre, et le service de génétique moléculaire du Pr Beziau au CHU de Nantes pour l'étude génétique d'ADAMTS13. L'activité du laboratoire est en nette augmentation en soins courant et en activité de recherche. Sur 13 ans, environ 13 000 tests ont été effectués, avec un recrutement national. Une à 3 séries par semaine d'activité ADAMTS13 sont réalisées, et les résultats sont rendus en tant que comptes rendus spécialisés d'experts.

Cette évaluation prend toute son importance à l'heure où l'utilisation de kits commerciaux ou de techniques développées localement tend à se généraliser progressivement, ce qui pose le problème de la validité de ces tests et de leur standardisation. De plus, l'activité d'ADAMTS13 est utilisée de manière croissante en routine dans la prise en charge des MAT, pour aider dans le choix d'une thérapeutique ciblée (rituximab, éculizumab) ou pour distinguer les différentes formes de MAT chez la femme enceinte (HELLP syndrome, PTT, SHU) qui impliquent chacune un traitement spécifique. L'étude d'ADAMTS13 est également utilisée de manière croissante dans le suivi des patients ayant présenté un PTT, ce qui permet de discuter des perfusions préemptives de rituximab.

Le principe de mesure de l'activité d'ADAMTS13 repose sur la dégradation d'un substrat exogène (VWF full-length ou courts peptides de VWF) par l'ADAMTS13 du plasma testé. Les produits de dégradation du VWF clivé sont mesurés par différentes techniques (électrophorétiques (fragments ou multimères), immunologiques (CBA, VWF:Ag), d'agrégation plaquettaire (VWF:RCo), fluorimétriques (FRETs-VWF) ou de spectrométrie de masse SELDI-TOF). L'objectif est la détection des déficits fonctionnels sévères, c'est-à-dire une activité d'ADAMTS13 <10%.

Méthodes. L'étude multicentrique nationale d'ADAMTS13 a été menée à partir de janvier 2011 et pilotée par le laboratoire ADAMTS13 du CNR-MAT sous l'égide du GEHT. Un panel de 11 échantillons de plasma à tester à l'aveugle (activité ADAMTS13, méthodes de mesure, commentaires) a été envoyé à tous les laboratoires volontaires en mars 2011. Les valeurs cibles déterminées par 2 méthodes concordantes (FRETs-VWF73, Kokame et al, 2005 / VWF full-length ELISA, Obert et al, 1999). Les 11 échantillons incluaient 2 échantillons < 10%, 6 échantillons 20 - 50% et 3 échantillons 60 - 100%.

En mai-juin 2011 les résultats étaient retournés au labo ADAMTS13 du CNR-MAT et en juillet 2011 les valeurs cibles ont été individuellement transmises à chaque laboratoire participant pour confrontation et auto-analyse.

Résultats. 12 laboratoires ont participé: 9 intra-CHU des Centre de Compétences du CNR-MAT (Bordeaux, Caen, Lille, Lyon, Marseille, Reims, Rouen, Toulouse, Tours), et 3 hors CHU des CC du CNR-MAT (Besançon, Grenoble, Saint Etienne).

Les techniques utilisées ont été les suivantes:

- . kits commerciaux (GTI / Technoclone) : 8+1 labos
- . méthodes "home made" CBA ou VWFRCo : 3+1 labos

A l'exception du VWF:RCo (utilisé dans un seul laboratoire, qui a changé de technique lors de l'étude), toutes les méthodes testées détectent le déficit fonctionnel sévère (< 10%) en ADAMTS13. Ceci souligne la capacité de conforter biologiquement un diagnostic de PTT en phase aiguë. Par contre, avec toutes les méthodes testées, la dispersion reste importante pour les valeurs d'ADAMTS13 détectables (tendance à la surestimation par rapport aux méthodes de référence), ce qui peut poser problème pour le suivi biologique en rémission. Ce suivi, de par les variations inter-laboratoires, devra idéalement se faire toujours avec la même technique. Le kit Technoclone apparait assez performant, malgré la nécessité d'optimiser la corrélation aux méthodes de référence et la reproductibilité inter-laboratoire.

Les **perspectives** pour l'expertise du laboratoire ADAMTS13 sont l'organisation d'un Contrôle de Qualité National par le CNR-MAT (éventuellement annuel), et une évaluation des kits commerciaux.

L'Association MAT ADAMTS13

Solange Corset / Audrey Bachet / Sandrine Malot

Cette année, Solange Corset (Solangecorset@yahoo.fr), présidente de l'association de malades « ADAMTS13 », n'a pu venir participer à la réunion du CNR-MAT. Mme Audrey Bachet, qui, l'année dernière, avait témoigné de son parcours en tant que mère d'un petit garçon de 3 ans atteint de PTT héréditaire, a présenté l'association avec Sandrine Malot.

Rôle de l'association :

- Être à l'écoute des patients et de leurs familles et les soutenir moralement ;
- Mieux faire connaître les différentes maladies (PTT, SHU, USS)
- Mettre en relation des différents adhérents qui en manifestent le désir et après accord des différents partis ;
- Répondre avec l'aide des médecins aux questions médicales
- Mise en relation des nouveaux malades avec Sandrine Malot (sandrinemalot@aol.com ou 06.22.54.28.86).

Nouveauté 2012-2013 :

- Projet « Aide sociale » mis en place en collaboration entre l'Association et Mme Nadia Boughatène, assistante sociale du Département d'Hématologie à l'Hôpital Saint-Antoine : état des lieux des besoins des patients (homogénéisation des décisions des MDPH, allocation « adulte handicapé », etc...);
- Projet « Soutien psychologique » mis en place avec le soutien de Mme Soraya Meylter, psychologue clinicienne (sophrologie, fasciathérapie, ...);
- Notre parrain, *Jean-Claude Dreyfus*, en relation avec l'association « 2 mains rouges » a participé à la création de T-shirts pour l'association ADAMTS13 (10 euros seront reversés à l'association pour chaque T-shirt acheté, qui seront attribués à des travaux de recherche sur les MAT) : <http://www.thierrysaintjean.com/products-deuxmainsrouges,2-mains-rouges-43,1350.html>

Bilan 2012 :

Durant l'année écoulée, une centaine de malades ont pris contact avec l'association par téléphone et 400 mails ont été échangés. L'association compte 25 adhérents. Un nombre important de visites a lieu sur le site de l'association <http://asso.orpha.net/ADAMTS13/> y compris de l'étranger (Espagne, Algérie, Grande-Bretagne, ...).

Les principales demandes des malades et de leurs proches sont :

- Plus de dialogue avec le médecin (les MAT sont des maladies difficiles à comprendre pour les non-spécialistes);
- Discours médical consensuel vis-à-vis du patient;
- Prise en charge psychologique/supplément d'explications vis-à-vis des proches de personnes décédées;
- Meilleure diffusion de l'information dans les services d'Urgences (plus grande rapidité du diagnostic).

Tous les ans a lieu la Marche Maladies Rares dans le cadre du Téléthon (le **7 décembre** cette année). L'association MAT ADAMTS13 y participe tous les ans. Venez nombreux !!!

Les membres de l'Association remercient l'ensemble des cliniciens de diffuser le plus largement possible les coordonnées de l'association (plaquettes envoyées sur simple demande).

Rôle des anticorps dans l'activation de l'endothélium au cours du PTT acquis: résultats préliminaires

Quelles perspectives pour l'utilisation d'une cascade de filtration chez les malades les plus graves?

Pascale Poullin et Gilles Kaplanski, Hôpital La Conception, Marseille

Pascale Poullin nous a présenté le cas d'une jeune femme de 28 ans, sans antécédent, atteinte d'un PTT sévère, traité initialement par corticostéroïdes et échanges plasmatiques. Devant le caractère réfractaire de la maladie et l'apparition de signes neurologiques (convulsions), le traitement a été intensifié. Malgré de fortes doses de corticostéroïdes, des échanges quotidiens, 2 perfusions de rituximab et 2 injections de vincristine, la patiente restait réfractaire au traitement à J14. L'équipe a envisagé plusieurs options pour un renforcement thérapeutique: bolus d'endoxan, EP bi-quotidiens, ou éculizumab. Le choix s'est porté sur l'utilisation de l'immunoabsorption (IA) sur cascade de filtration. Après 2 séances espacées de 24 heures avec la poursuite des EP, le tableau clinique et le taux de plaquette se sont normalisés. La thrombopénie est réapparue vers J24, ce qui a nécessité une nouvelle séance d'IA, la poursuite des EP et l'injection au total de 4 perfusions de rituximab. L'évolution a été favorable, avec une normalisation durable du taux de plaquettes à J30.

Parallèlement aux séances d'IA, l'activité ADAMTS13 et le taux d'anticorps anti-ADAMTS13 a été étudié, et a montré très rapidement après la séance une quasi négativation du taux d'AC et une ascension de l'activité d'ADAMTS13.

Devant cette expérience, l'idée d'utiliser l'IA dans les PTT en poussée mériterait d'être évaluée, soit en situation de sauvetage (PTT encore évolutif sous EP et rituximab), soit dès la phase initiale en cas de PTT réfractaire à J5 ou ré-évolutif.

Gilles Kaplanski a ensuite présenté les résultats préliminaires d'un travail ayant eu pour objectif d'étudier le rôle des IgG circulantes dans l'activation endothéliale au cours du PTT acquis. Ce travail pose donc la question du rôle des immunoglobulines (et en particulier des anticorps anti-ADAMTS13) en tant que "second hit" au cours du PTT acquis.

Les premiers résultats sont les suivants:

Le plasma de patients atteints de PTT induit la dégranulation des corps de Weibel-Palade par les cellules endothéliales *in vitro*, libérant ainsi du FvW de très haut poids moléculaire. Cette dégranulation est médiée par un signal calcique au sein des cellules endothéliales.

L'hypothèse est que les IgG pourraient jouer un rôle dans l'activation endothéliale. Pour répondre à cette question, des plasmas ont été passés sur colonne d'affinité protéine A-sépharose, afin de soustraire les immunoglobulines. Ainsi, les plasmas sans IgG de patients atteints de PTT ont un flux calcique moindre. Parallèlement, les seules IgG de ces patients induisent un flux calcique et une externalisation du FvW de très haut poids moléculaire. De plus, des IgG de patients atteints de PTT à une concentration de 50 µg/mL induisent une sécrétion de FvW significativement plus importante que des IgG de patients témoins.

La troisième partie de l'exposé a porté sur le rôle des microparticules dans la physiopathologie du PTT. Pour rappel, les microparticules sont des vésicules issues du bourgeonnement des membranes cellulaires, en réponse à une activation ou à l'apoptose des cellules. Leur taille est hétérogène (0.1 à 1µm). Elles permettent d'exposer des protéines de

surface et des antigènes des cellules dont elles sont issues. Les microparticules participent aux réactions de coagulation.

In vitro, les plasmas de PTT induisent la formation de microparticules endothéliales (MPE). Ces MPE portent le FvW. La question est donc de comprendre les mécanismes de production des MPE au cours du PTT. Les résultats exposés montrent que la production de MPE induite par les plasmas PTT est dépendante d'un flux calcique d'origine extra-cellulaire. De plus, la microvésiculation endothéliale est dépendante de la présence d'IgG dans le plasma des PTT.

En conclusion, les IgG des patients atteints de PTT pourraient avoir la propriété d'activer les cellules endothéliales et/ou de participer à la formation de MPE pro-agrégantes, réalisant ainsi le second hit de la séquence physiopathologique du PTT. Le métabolisme calcique pourrait ainsi représenter une cible thérapeutique majeure.

Peut-on appliquer la stratégie « Pick a winner » dans les MAT pour accroître le nombre de nouveaux schémas thérapeutiques à évaluer ?

Paul Coppo, Hôpital Saint-Antoine, Paris

La conduite d'essais thérapeutiques dans le domaine des maladies rares se heurte à la rareté des pathologies et à leur hétérogénéité. Dans le domaine des MAT, les progrès thérapeutiques font souvent appel à des molécules coûteuses pour lesquelles il est attendu qu'il y ait un bénéfice rapide et évident. A partir de ces constats, une stratégie de type « pick a winner » pourrait se révéler intéressante pour tester de nouvelles stratégies thérapeutiques rapidement. Ce type de stratégie a initialement été développé en cancérologie chez des patients atteints de néoplasies de mauvais pronostic pour lesquelles les molécules expérimentales se devaient d'apporter un bénéfice rapide et évident (cancer de l'ovaire, du pancréas...).

L'intérêt d'une stratégie « pick a winner » est de permettre de tester de multiples bras expérimentaux dans un même temps avec un seul bras témoin, alors que dans les essais thérapeutiques classiques il faut compter le plus souvent un bras témoin pour un bras expérimental (il y a donc moins de patients à inclure dans une étude de type « pick a winner »). De plus, l'effet bénéfique attendu avec la molécule expérimentale étant important, le nombre de patients à inclure est relativement faible. Enfin, pour limiter au maximum l'inclusion de patients dans des bras expérimentaux pour lesquels une molécule est peu ou pas efficace, la stratégie consiste à fermer rapidement un bras si au bout de N malades inclus le bénéfice obtenu est inférieur à l'objectif attendu. Si par contre le bénéfice obtenu sur les premiers malades inclus correspond à celui de l'objectif, les inclusions dans ce bras continuent jusqu'à que la puissance statistique soit suffisante pour conclure définitivement sur l'efficacité de la molécule.

Les molécules qu'il serait intéressant d'évaluer dans le cadre d'un essai « pick a winner » dans les MAT seraient le rituximab en première ligne dès le diagnostic (maintenant que les modalités d'administration ont été définies de manière plus précise), la cascade de filtration et la N-acétylcystéine en tant qu'agent permettant de limiter la multimérisation des molécules de facteur Willebrand (Chen *et al.*, J Clin Invest 2011). Une étude « pick a winner » dans ce contexte ferait donc intervenir un bras témoin et deux bras expérimentaux (rituximab en première intention et N-acétylcystéine, ou cascade de filtration) (Figure).

Les bénéfices escomptés seraient les suivants :

1. Pour le rituximab en première ligne :

- Il devrait permettre de limiter encore davantage les exacerbations;
- Il devrait permettre de prévenir les rechutes les 12 à 18 premiers mois (voire au delà ?)
- Il pourrait permettre de suspendre rapidement les EP, sans « consolidation ou entretien »

2. Pour la N-acétylcystéine :

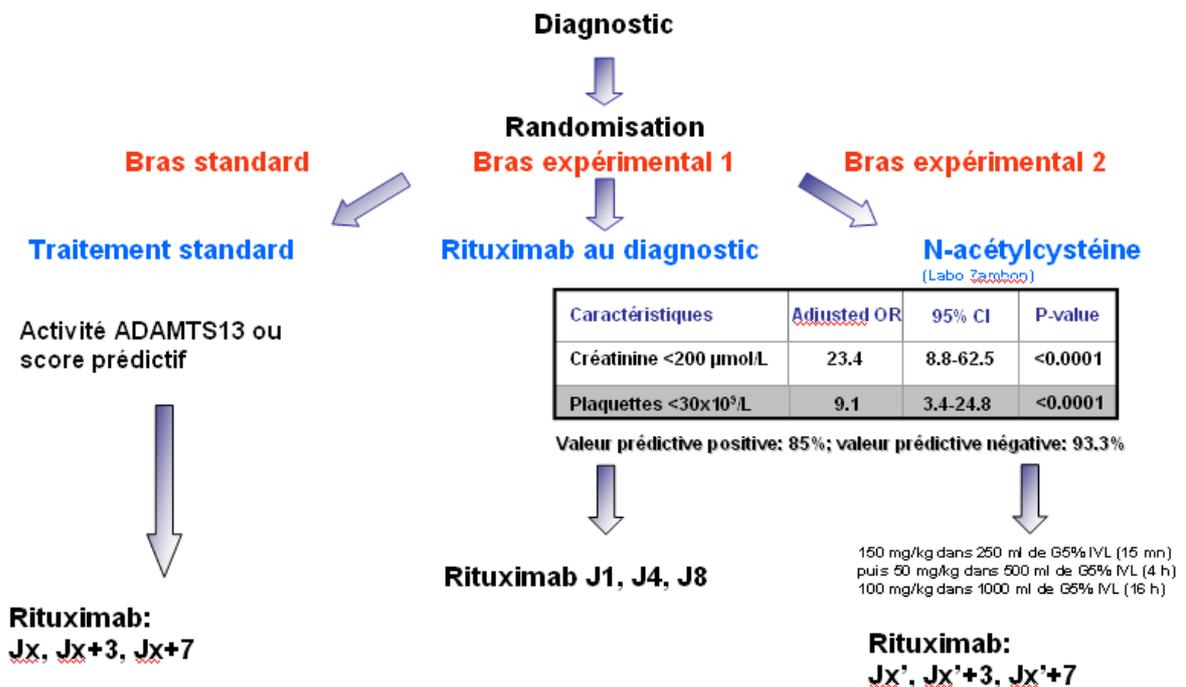
- Réduction de la taille des multimères de FW, diminution des forces de cisaillement dans la microcirculation et limitation du nombre de multimères à la surface de l'endothélium
- Réduction des ponts disulfure et le pouvoir hémostatique des multimères de FW vis-à-vis des plaquettes

- Et donc prévention/diminution de la formation de nouveaux microthrombi, et possiblement prévention du phénomène d'exacerbation du PTT sous traitement.

3. Pour la cascade de filtration :

- **Elimination rapide des immunoglobulines (et donc des anticorps anti-ADAMTS13), permettant d'obtenir une efficacité thérapeutique rapide chez les patients mauvais répondeurs.** La discussion est de savoir à quel moment de la prise en charge thérapeutique cette stratégie doit être proposée (avant le rituximab ? plutôt qu'après ?)

Une proposition d'étude sera donc prochainement réalisée.



Evaluation de l'intérêt du manganèse dans les diarrhées STEC+ pour prévenir l'évolution vers un SHU/limiter la sévérité du SHU : projet Mangashu

Pierre Galichon, Aurélien Bataille, Alexandre Hertig, Hôpital Tenon, Paris

Alexandre Hertig a proposé un essai prospectif ayant pour objectif de proposer une stratégie thérapeutique applicable dans l'urgence au plan national, dans l'hypothèse d'un scénario de nouvelle épidémie à STEC comme celle arrivée en Allemagne au printemps 2011.

La prise en charge du SHU « typique » à *E. coli* entéro-hémorragique en 2012 repose principalement sur un traitement symptomatique (hydratation/remplissage – hémodialyse). Différentes approches étiologiques ont été rapportées, comme en particuliers les antibiotiques bactériostatiques, les anticorps anti-shigatoxine, les échanges plasmatiques, l'immunoabsorption et l'eculizumab (largement employé lors de l'épidémie allemande et chez les 9 patients de l'épidémie bordelaise fin juin 2011). Si quelques travaux suggèrent un bénéfice de l'eculizumab dans les formes graves de SHU STEC+, un travail récent issu de l'expérience allemande ne confirme pas ces résultats. Par contre, ce travail a souligné le rôle possible des antibiotiques, qui auraient un effet protecteur sur les diarrhées, les convulsions et le décès.

Un article récent paru dans la revue Science en 2012 montre que le manganèse bloque le trafic intracellulaire de la shigatoxine au niveau de l'appareil de Golgi, protégeant ainsi la cellule de la toxicité. La survie des souris traitées par des doses croissantes de manganèse était très significativement améliorée. On peut ainsi émettre l'hypothèse que ce traitement simple et bien toléré pourrait permettre soit d'empêcher l'apparition d'un SHU dans un contexte de diarrhée à STEC, soit de diminuer la sévérité d'un SHU-STECS+ installé.

Données sur la tolérance du manganèse:

Objectifs de l'étude :

- Traitement par manganèse :
 - Des diarrhées hémorragiques STEC+
 - D'une épidémie de SHU
- Critères de jugement :
 - Primaire: apparition du SHU
 - Secondaire: sévérité du SHU, sécurité du manganèse, durée de la diarrhée, durée d'hospitalisation

Sécurité du MnCl₂ chez l'animal:

- Pas d'effet observé pour une exposition à long terme de 70 mg/kg/j pour le rat et 200 mg/kg/j pour la souris;
Le singe exposé depuis la naissance pendant 4 mois à 0,328mg/kg/j présente des modifications neurocomportementales minimales;
- Le singe recevant 25 mg/kg/j pendant 18 mois présente une faiblesse et une rigidité musculaire.

Sécurité du MnCl₂ chez l'homme:

- L'exposition habituelle est de 2,5 à 10 mg/jour. L'absorption digestive est de 5%;
- L'exposition chronique (une dizaine d'années) par l'eau serait responsable d'une diminution du QI et favoriserait la survenue d'un syndrome Parkinsonien;

- Une exposition de 2 mois à 0,3mg/kg/j est sans effet neuropsychologique;
- Ce médicament a l'AMM sous forme IV dans les indications suivantes:
 - Suppléments à l'alimentation parentérale (faibles doses);
 - Produit de contraste radiologique IV en IRM : MnDPDP et MnCl₂ 5 µmol/kg (0,63 mg/kg de MnCl₂ anhydre);
 - Études de sécurité positives.

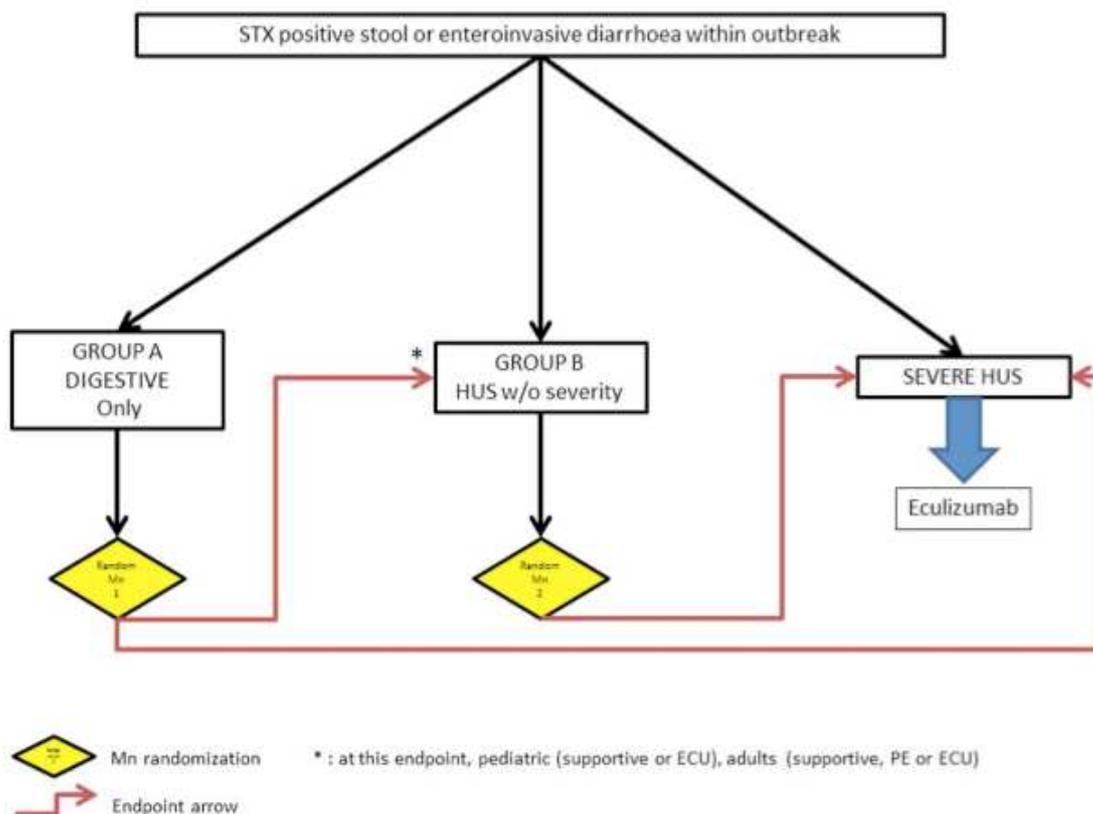
La proposition d'étude est la suivante:

Schéma de l'étude:

- Mise en place du réseau / simulation d'une épidémie
- Dépistage en France :
 - 1 564 086 diarrhées aiguës chez les 0-16 ans en 2011 (réseau Sentinelles, <http://www.sentiweb.fr>)
 - Hypothèse: 15 000 (1%) diarrhées hémorragiques
 - dont 15% de diarrhées STEC+
- => 1 500 cas détectés pour 10 000 diarrhées hémorragiques testées (1 156 patients à traiter pour détecter 50% d'efficacité)
- Traitement par MnCl₂ per os 20 mg/kg/j PO vs placebo

Bénéfices attendus

- Pallier une carence thérapeutique pour une maladie grave;
- Valider un médicament de coût faible;
- Répondre à un besoin humanitaire des populations victimes des épidémies de diarrhées à STEC.



Ce projet a été soumis à un appel d'offre AFSSAPS 2012, et rejeté car ces appels d'offre sont réservés aux études rétrospectives sur la prescription hors AMM, et non aux études prospectives...Néanmoins ce projet correspond à un besoin médical, avec un rationnel scientifique fort, nécessitant une expertise et une logistique ainsi qu'un financement public ou caritatif.

Au cours de la discussion a été soulevé l'intérêt d'une antibiothérapie bactériostatique concomitante. La reconnaissance des cas et l'utilisation des kits de détection rapide de shigatoxine semblent ne pas poser de problème en cas d'épidémie, mais cela semble plus problématique hors épidémie. C'est pour cela qu'une simulation hors épidémie est nécessaire.

Evaluation de l'intérêt de l'éculizumab au cours des MAT de l'allogreffé : projet Soligrefe

Régis Peffault Delatour, Hôpital Saint-Louis, Paris

Les MAT post-allogreffe sont décrites depuis plus de 30 ans mais restent mal connues et le plus souvent multifactorielle. Les principaux facteurs de risque semblent être le sexe féminin, l'âge élevé, le type de conditionnement (ICT, Busulfan), les anticalcineurines et inhibiteurs de mTor, les infections (Aspergillose, Virus Herpès, adénovirus...), un donneur non apparenté (en particuliers mismatch), et la survenue d'une GVH de grade II à IV. La médiane de survenue post allogreffe est de 44 jours (13-319).

Reconnaître une MAT en contexte d'allogreffe de CSH est difficile car la créatinine est un mauvais marqueur (peu sensible) de la fonction rénale chez les patients souvent dénutris, les LDH sont toujours élevées, la présence de schizocytes n'est pas spécifique, l'haptoglobine perd de sa valeur dans des contextes d'inflammation, la thrombopénie peut parfois persister des semaines voire mois après la greffe et la pression artérielle est également un mauvais marqueur car souvent élevée (corticoïdes, ciclosporine...). Plusieurs équipes ont proposé des critères diagnostiques, résumés dans un article de Laskin *et al* (Blood ; 2011). On retient essentiellement les critères proposés de probable MAT par Cho *et al* dans la revue Transplantation en 2010 : ≥ 2 schizocytes par champ dans le sang périphérique, un taux de LDH élevé, une thrombopénie $< 50\ 000/\text{mm}^3$ ou une diminution $\geq 50\%$ du taux de plaquettes, une baisse de l'hémoglobine, un test de Coombs globulaire négatif, une baisse de l'haptoglobine et l'absence de CIVD. Dans ces critères on note l'absence de critère clinique et de prise en compte de la fonction rénale.

Le traitement des MAT post allogreffe de CSH repose essentiellement sur la suppression des facteurs déclenchants et des soins de support adaptés. Il n'existe pas de traitement de référence (EP, défibrotide, Rituximab sont le plus souvent utilisés en l'absence de réponse après modification du traitement immunosuppresseur). Le pronostic des formes sévères reste mauvais.

Devant l'absence de thérapeutiques franchement efficaces, se pose alors la question de l'utilisation des bloqueurs du complément. Régis Peffault Delatour rapporte l'observation d'un patient allogreffé depuis 9 mois qui a présenté une MAT sévère avec atteinte cérébrale dans un contexte de GVH et d'infection fongique. Malgré les mesures symptomatiques, le contrôle de l'infection et de la GVH, le syndrome de MAT restait actif. Un traitement par éculizumab a alors été initié selon le schéma recommandé dans le SHU atypique. Les signes neurologiques se sont rapidement amendés avec dès la première injection une amélioration des paramètres d'hémolyse et une ascension du taux de plaquette. Le patient a pu sortir de l'hôpital, et l'éculizumab a pu être suspendu après 3 mois, sans récurrence du syndrome de MAT. Malgré ce cas encourageant, un traitement par éculizumab s'est révélé inefficace chez trois autres patients, pour lesquels le contexte était différent: 1 cas utilisé très tardivement, pré-mortem après échec des plasmaphèreses et du rituximab, 1 cas utilisé dans un contexte de GVH cortico-résistante non contrôlée, et 1 dernier cas de MAT rénale +/- pulmonaire.

Dans ce contexte, il apparaît nécessaire de mettre en place un protocole visant à mieux appréhender l'utilisation de l'éculizumab dans les MAT post-allogreffe de CSH (étude SOLIGREFE).

La proposition est de réaliser une étude de phase 2, prospective, multicentrique, ouverte avec un seul bras. Il est prévu d'inclure 10 patients atteints de MAT post-allogreffe de CSH sans aucune cause associée pendant une période d'inclusion de 2 ans et un suivi d'1 an par patient. L'objectif primaire est l'amélioration hématologique. L'étude portera également sur les marqueurs pro-thrombotiques et pro-inflammatoires, l'activité ADAMTS13 et l'exploration de la voie alterne du complément. Cette étude se fera sous l'égide du CNR-MAT et de la SFGM-TC. Le promoteur pressenti est l'AP-HP.

Safety /tolerance of plasma inactivated by Amotosalen®: study proposal

Laurence Corash, Cerus, USA, Raoul Herbrecht, CHRU de Strasbourg

Laurence Corash de l'université UCSF et responsable de la société Cerus développant le plasma inactivé par amotosalen (plasma-IA) nous a présenté un projet d'étude prospective afin de déterminer la tolérance du plasma-IA chez les patients atteints de PTT, ainsi que la réponse au traitement et la fréquence des événements cardiaques et thrombotiques chez les patients atteints de PTT.

Pour rappel, l'inactivation des agents pathogènes du plasma par l'amotosalen passe par une intercalation de ce produit (famille des psoralènes) dans l'ADN et l'ARN. Sous l'influence d'UVA se forment des liaisons covalentes empêchant la réplication des acides nucléiques, inactivant ainsi les agents pathogènes et les leucocytes.

La comparaison *in vitro* du plasma-IA au plasma-SD de Bordeaux retrouve un taux de protéine S et d'alpha-2 PI (inhibiteur du plasminogène) plus élevé. Le plasma -IA conserve des fonctions pro-coagulantes, anti-thrombotiques, des concentrations de fibrinogène, et une activité ADAMTS13 normales.

Les bénéfices selon Laurence Corash de l'utilisation du plasma -IA lors des échanges plasmatiques sont multiples : inactivation solide des pathogènes, obtention de poches à partir d'un seul donneur, production multi-sites, donneurs uniquement masculins limitant les risques de TRALI, faible niveau de contenu cellulaire et conservation de l'activité ADAMTS13.

Actuellement en France nous disposons essentiellement du PVI-SD (produit par l'EFS de Bordeaux) et du plasma -IA produit dans plusieurs sites. Le plasma bleu de méthylène a été retiré récemment du marché devant la notification de nombreux épisodes anaphylactiques.

Au cours du PTT, bien que les données de la littérature soient encore limitées, les événements cardiaques sont fréquents et responsables d'une morbi-mortalité importante. Par ailleurs, le risque de thrombose veineuse semble élevé au cours du PTT, en particulier lors de l'ascension du taux de plaquettes. Une étude utilisant du plasma-SD (Octapharma) a retrouvé un événement thrombotique veineux chez 8/68 patients. Une hypothèse, en dehors de l'augmentation du taux de plaquettes est que le taux de protéine S et d'alpha-2 inhibiteur de la plasmine sont bas dans les poches de plasma SD, augmentant ainsi le risque de thrombose.

Le plasma -IA a déjà fait l'objet d'une étude américaine prospective randomisée contrôlée de phase 3 *versus* des contrôles traités par PFC. Dans cette étude portant sur 35 patients, 5 événements cardiaques ont été signalés et n'ont pas été considérés comme des effets secondaires du traitement.

L'étude prospective proposée par Laurence Corash porte sur une population de patients atteints de PTT acquis et comparerait un traitement utilisant le plasma-IA à celui utilisant le PFC-SD. Le choix du traitement dépendra de la région où est pris en charge le patient, la distribution du plasma en France étant sectorisée. La durée de suivi du patient sera de 60 jours après le premier EP avec comme principaux points étudiés : le taux de rémission dans les 30 premiers jours, le taux de rechute dans les 60 jours ainsi que les événements cardiaques et thrombotiques.

Dans les suites de cette intervention, **Cécile Fohrer du CHRU de Strasbourg** a présenté une étude rétrospective menée à Strasbourg et à Mulhouse et intitulée : « **Plasmaphèreses avec plasma traité par Intercept versus plasma sécurisé par quarantaine. Etude de cohorte rétrospective chez patients atteints de PTT traités au CHU de Strasbourg et à Mulhouse** ».

En 2007 a débuté l'utilisation du plasma traité par Amotosalen et UVA (INTERCEPT) en France. Le but de l'étude était d'apprécier la tolérance et l'efficacité des échanges plasmatiques avec du plasma Intercept comparativement aux échanges avec du plasma sécurisé chez des patients atteints de PTT acquis. Il s'agit d'une étude rétrospective de cohorte comparant les patients pris en charges à Strasbourg et à Mulhouse sur 2 périodes de temps :

- de janvier 1998 à août 2007 : plasma sécurisé par quarantaine
- de septembre 2007 à octobre 2012 : plasma Intercept (provenant de l'EFS d'Alsace)

Tous les patients étaient adultes, avaient une activité ADAMTS13 indétectable associée à des anticorps anti-ADAMTS13, et ont été traités par échanges plasmatiques.

Les critères d'évaluation sont les événements indésirables (cardio-vasculaires ou autres), le taux de rémissions à J30 et J60, le délai d'obtention de la rémission, le nombre de rechutes avant J60, le nombre de plasmaphèreses et le volume de plasma nécessaire jusqu'à l'obtention d'une rémission, et le nombre de transfusions de culots globulaires.

Dix-huit patients ont été inclus sur la première période (PFC sécurisé par quarantaine) et 21 sur la deuxième (Intercept). Trois patients étaient dans les 2 cohortes. Les données sont encore préliminaires et l'analyse de tolérance est encore en cours ; il n'y a pas de toxicité particulière signalée pour l'instant. Concernant l'efficacité de ce plasma par rapport au plasma sécurisé, les conclusions sont plus difficiles à porter compte tenu de l'effectif limité de chaque groupe de malades, et de la variabilité des traitements associés. Les données préliminaires retrouveraient un taux de rémission plus faible (62% vs 91%), un nombre de jours jusqu'à rémission plus long (12 vs 10.5) et un taux de mortalité plus élevé (31% vs 9%) dans le groupe traité par PFC-sécurisé. Cependant, il est possible que ces différences soient liées à une amélioration de la prise en charge des patients entre avant 2007 et après, indépendamment du type de plasma (en particulier, amélioration de la prise en charge par un diagnostic plus précoce, introduction du rituximab plus précoce et plus systématique, homogénéisation des pratiques, etc...).

Projet MAT grossesse

Julie Peltier, Hôpital Tenon, Paris / Yahsou Delmas, Hôpital Pellegrin, Bordeaux

Les MAT au cours de la grossesse sont représentées par le HELLP syndrome (spécifique à la grossesse), le PTT et le SHU atypique (non spécifiques à la grossesse). Le HELLP syndrome est une pathologie grave compliquant 0,1 à 0,2% des grossesses (environ 800 cas par an en France) et 20% des pré-éclampsies. Son évolution est fatale chez 1 femme sur 100. La pré-éclampsie (TA>140/90 et protéinurie >300mg/24 à partir de 20SA) complique 1 à 2% des grossesses. Sa physiopathologie fait intervenir de nombreux facteurs comme Flt-1, le VEGF ou l'endogline, ainsi que des anomalies de la stéroïdogénèse placentaire. Le PTT et le SHU, plus rares, compliquent 1 grossesse sur 25 000. On estime qu'on diagnostique un cas de PTT pour 100 cas de HELLP syndrome. Ces pathologies, appartenant au domaine des maladies rares, sont toutefois favorisées par la grossesse, et peuvent l'une comme l'autre se manifester cliniquement sous la forme d'un HELLP syndrome, ce qui rend souvent difficile le diagnostic différentiel. Ainsi, des anomalies de la voie alterne du complément ont été détectées chez quelques patientes (4 sur 11) ayant présenté un tableau apparent de HELLP syndrome accompagné d'insuffisance rénale, laissant suggérer le diagnostic de SHUa. Il semble également que les SHUa avec anomalies du complément surviennent préférentiellement dans le post-partum. De plus, dans près de 13% des cas de HELLP syndromes de la grossesse et du post-partum, un déficit sévère héréditaire ou acquis en ADAMTS13 est rétrospectivement identifié, ce qui permet de retenir le diagnostic final de PTT.

Chez les patientes atteintes de HELLP syndrome, la seule thérapeutique est la délivrance en urgence, qui peut s'associer à une morbi-mortalité fœtale et maternelle non négligeable. Les patientes atteintes d'autres types de MAT comme un PTT doivent à l'inverse bénéficier d'une plasmathérapie en urgence, en association parfois à des immunosuppresseurs. Une erreur diagnostique entre ces formes de MAT aboutit à un traitement inadapté et se traduit par une surmortalité maternelle et fœtale. Ainsi, dans notre expérience, 2 patientes sur notre cohorte de 32 PTT obstétricaux (6,5%) sont décédées, alors que le diagnostic initial porté avait été celui de HELLP syndrome. Le diagnostic de PTT ayant été porté rétrospectivement, le traitement par EP n'avait pas été entrepris, ce qui traduit une prise en charge inadaptée qui fut fatale.

A ce jour, il n'existe pas de biomarqueur spécifique pour le diagnostic de HELLP syndrome. Cependant, les patientes atteintes de HELLP syndrome ont des concentrations sériques élevées de récepteur soluble au VEGF et d'endogline soluble. La valeur diagnostique de ces marqueurs reste à ce jour inconnue. Par ailleurs, une étude rétrospective menée à Bordeaux a montré que l'activité ADAMTS13, dosée systématiquement chez 43 patientes ayant présenté une thrombopénie < 75 G/L, s'est révélée indétectable dans 4 cas, ce qui suggère que l'incidence du PTT pourrait être sous-estimée.

Il apparaît ainsi important de pouvoir savoir avec précision la fréquence d'un déficit sévère en ADAMTS13 au cours des MAT de la grossesse, et en particulier chez les patientes ayant un tableau de HELLP syndrome sévère pouvant correspondre à un PTT. Il est également important de déterminer si l'on peut établir un score prédictif d'un déficit sévère en ADAMTS13 au cours des MAT de la grossesse afin de pouvoir proposer en temps réel un traitement adapté au type de MAT (extraction fœtale ou échanges plasmatiques).

Pour cela, la proposition est de mener une **étude de cohorte nationale** multicentrique qui inclura 400 patientes sur 3 ans.

L'**objectif principal** est d'établir des critères diagnostiques permettant de distinguer rapidement le HELLP syndrome du PTT au cours de la grossesse, afin d'initier un traitement spécifique adapté.

Les **objectifs secondaires** sont :

- De déterminer les MAT de la grossesse et du post-partum en fonction des mécanismes physiopathologiques sous-jacents ;
- Prévalence du PTT, des anomalies de la voie alterne du complément ;
- Etudier le lien physiopathologique avec les vasculopathies placentaires (flt-1, endogline soluble, aromatasase) ;
- Etudier des marqueurs précoces ou score biologique prédictifs de l'évolution des patientes à court et moyen terme (dont séquelles rénales ou vasculaires).

Critères d'inclusion:

Thrombopénie $<100\ 000/\text{mm}^3$ + anémie hémolytique (haptoglobine effondrée, ou LDH $> 600\text{UI/l}$), ou cytolysse hépatique ($> 70\text{UI}$), survenant en période de pré-partum ou post-partum (< 10 jours).

Critère d'exclusion :

Syndrome catastrophique des antiphospholipides (entité à part).

Critère d'évaluation principal:

Dosage de l'activité ADAMTS13, réalisé en urgence (dans les 48 à 72 heures) dans les formes graves.

Critères d'évaluation secondaires:

Etude de la voie alterne du complément chez patientes ayant créatinine $>150\mu\text{mol/l}$;
Biopsie rénale si indication de dialyse (sauf si troubles de l'hémostase associés) ;
Etude des marqueurs angiogéniques (Flt-1 et endogline solubles, stéroïdogénèse placentaire) ;
Sérothèque, DNAtèque, urinothèque dès le diagnostic de HELLP et à M3 ;
Etude histologique du placenta ;
Fréquence des rechutes de MAT à 3 mois et 1 an de suivi ;
Fréquence des séquelles maternelles (HTA, insuffisance rénale, albuminurie) ;
Etude des facteurs de risque vasculaires.

Perspectives :

La mise au point d'un score prédictif d'un déficit sévère en ADAMTS13, qui traduira le diagnostic de PTT, permettra de proposer un traitement en urgence adapté au type de MAT, et devrait permettre d'améliorer le pronostic des patientes atteintes de PTT. En l'absence de paramètres prédictifs identifiables, la discussion s'orientera vers l'utilisation de kits de dosage d'ADAMTS13 dans les maternités prenant en charge les MAT de la grossesse.

Etude pilote sur la vasculocompétence chez les patients recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

Laurent Gilardin, Institut de Recherche des Cordeliers, Paris

La survenue d'une microangiopathie thrombotique chez les patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques est une complication rare, grave et difficile à diagnostiquer. Les cellules endothéliales circulantes sont des marqueurs d'atteinte vasculaire, elles sont libérées de la paroi lors d'une atteinte de l'endothélium et sont caractérisées par la présence du marqueur de surface CD146. Il est possible de les détecter dans le sang, selon différentes méthodes basées sur un tri immuno-magnétique, elles sont normalement peu nombreuses chez les individus sains et augmentées dans de nombreuses situations cliniques, dont l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Nous avons donc entrepris une étude pilote prospective chez des patients allogreffés où le taux de CEC était mesuré avant le conditionnement puis le jour de la greffe puis à J7, J15, J21, J30 et J60. Les patients traités à l'hôpital Saint Louis et à l'hôpital Saint Antoine à Paris étaient suivis pendant 2 mois post allogreffe : les objectifs étaient de déterminer si le taux de CEC permet de prédire l'apparition d'une MAT ou de maladie du greffon contre l'hôte (GVH) et d'identifier les facteurs faisant varier le taux de CEC.

Quatorze patients ont été inclus (8 à l'hôpital Saint Antoine et 6 à l'hôpital Saint Louis). Dix ont reçu un conditionnement myéloablatif dont 5 avec irradiation corporelle totale et tous ont reçu un traitement immunosuppresseur à base de ciclosporine. Un patient a développé une MAT, à J39 post allogreffe, résolutive à l'arrêt de la ciclosporine, 9 patients présentaient une GVH prouvée histologiquement survenant entre J5 et J42. Trois patients ont rechuté et 2 patients sont décédés, dont 1 après rechute d'une leucémie aiguë.

Il a été **observé une diminution significative du taux médian de CEC entre J0 et J21**. Par la suite, les taux de CEC étaient très hétérogènes avec des niveaux très élevés pour certains patients, sans explication évidente. Cette variabilité inter et intra-individuelle en fonction du temps était extrêmement importante et compte-tenu des faibles effectifs, il n'a pas été possible d'identifier les facteurs associés à une augmentation du taux de CEC. Le patient ayant développé une MAT à J39 a montré une élévation modérée des CEC à J30 mais il n'a pas été possible de mesurer le taux de CEC au moment de l'épisode de MAT. Il n'existait pas de différence entre le taux médian de CEC selon le type de conditionnement (myéloablatif versus non myéloablatif), le type de donneur (fichier versus donneur apparenté), la survenue d'une rechute ou d'un épisode infectieux (viral ou bactérien). Pour les patients atteints de GVH, il semblait exister une augmentation du taux médian de CEC pour les GVH corticorésistantes. Enfin, le taux de CEC à J30 et J60 étaient plus élevés chez les patients décédés. Parallèlement à cette étude, un patient suivi à l'hôpital Saint-Louis a développé une MAT sévère, sans GVH évolutive ou infection, à plus de 5 mois post-allogreffe. Il a été traité par éculizumab. Ses taux de CEC étaient mesurés avant et après les perfusions et on assistait à une étroite association entre le taux de CEC et les dates d'administration.

Au total, le taux de CEC ne permet probablement pas de prédire la survenue de MAT ou de GVH mais il s'agit d'un probable marqueur pour le diagnostic positif et pour le suivi des MAT chez l'allogreffé, qui sont de diagnostic difficile avec de nombreux facteurs confondants. Cette étude pilote a permis d'évaluer la faisabilité d'une étude prospective plus large qui permettrait d'évaluer l'intérêt du taux de CEC pour le diagnostic et le pronostic des MAT de l'allogreffé.

Centres partenaires composant le CNR-MAT:

- Alsace: Herbrecht Raoul (CH de Hautepierre – Strasbourg)
raoul.herbrecht@chru-strasbourg.fr
- Aquitaine: Gruson Didier (CH Pellegrin – Bordeaux)
didier.gruson@chu-bordeaux.fr
- Auvergne: Alexandre Lautrette (CH Hôtel-Dieu - Clermont-Ferrand)
alautrette@chu-clermontferrand.fr
- Basse Normandie: Daubin Cédric (CH de Caen)
Daubin-c@chu-caen.fr
- Bourgogne: Mousson Christiane (CH de Dijon)
christiane.mousson@chu-dijon.fr
- Bretagne: Vigneau Cécile (CH Pontchaillou – Rennes)
cecile.vigneau@chu-rennes.fr
- Centre: Jean-Michel Halimi (CH Bretonneau – Tours)
halimi@med.univ-tours.fr
- Champagne-Ardenne : Wynckel Alain (CH Maison Blanche – Reims)
awynckel@chu-reims.fr
- Haute-Normandie : Bonmarchand Guy (CH Ch. Nicolle – Rouen)
Guy.Bonmarchand@chu-rouen.fr
Benhamou Ygal (CH Ch. Nicolle – Rouen)
Ygal.Benhamou@chu-rouen.fr
- Ile-de-France: Anguel Nadia (CH Bicêtre – Le Kremlin Bicêtre)
nadia.anguel@bct.aphp.fr
Azoulay Elie (CH Saint-Louis – Paris)
elie.azoulay@sls.aphp.fr
Coppo Paul (CH Saint-Antoine – Paris)
paul.coppo@sat.aphp.fr
Deligny Christophe (CH de Fort-de-France)
Christophe.deligny@chu-fortdefrance.fr
Deschênes Georges (CH Robert Debré – Paris)
georges.deschenes@rdb.aphp.fr
Devidas Alain (CH Sud-Francilien, Corbeil-Essonnes)

alain.devidas@ch-sud-francilien.fr
Fain Olivier (CH Jean Verdier – Bondy)
olivier.fain@jvr.aphp.fr
Frémeaux-Bacchi Véronique (HEGP – Paris)
veronique-fremeaux.bacchi@egp.aphp.fr
Galicier Lionel (CH Saint-Louis – Paris)
lionel.galicier@sls.aphp.fr
Guidet Bertrand (CH Saint-Antoine – Paris)
bertrand.guidet@sat.aphp.fr
Jacobs Frédéric (CH Antoine Béclère – Clamart)
Frederic.jacobs@abc.aphp.fr
Lesavre Philippe (CH Necker – Paris)
Philippe.lesavre@nck.aphp.fr
Loirat Chantal (CH Robert Debré – Paris)
chantal.loirat@rdb.aphp.fr
Leguern Véronique (GH Cochin-Saint-Vincent de Paul – Paris)
Veronique.leguern@cch.aphp.fr
Mira Jean-Paul (GH Cochin-Saint-Vincent de Paul – Paris)
jean-paul.mira@cch.aphp.fr
Osman David (CH Bicêtre – Le Kremlin Bicêtre)
David.osman@bct.aphp.fr
Pène Frédéric (GH Cochin-Saint-Vincent de Paul – Paris)
frederic.pene@cch.aphp.fr
Ribeil Jean-Antoine (CH Necker – Paris)
jean-antoine.ribeil@nck.aphp.fr
Ronco Pierre (CH Tenon – Paris)
Pierre.ronco@tnn.aphp.fr
Rondeau Eric (CH Tenon – Paris)
eric.rondeau@tnn.aphp.fr
Saheb Samir (GH Pitié-Salpêtrière – Paris)
samir.saheb@psl.aphp.fr
Vernant Jean-Paul (GH Pitié-Salpêtrière – Paris)
jean-paul.vernant@psl.aphp.fr
Veyradier Agnès (CH Béclère – Clamart)

agnes.veyradier@abc.aphp.fr

Vrtovsnik François (CH Bichat – Paris)

Francois.vrtovsnik@bch.aphp.fr

Languedoc-Roussillon : Rossi Jean-François (CH Lapeyronie – Montpellier)

jf.rossi2@wanadoo.fr

Limousin : Bordessoule Dominique (CH Dupuytren – Limoges)

dominique.bordessoule@chu-limoges.fr

Midi-Pyrénées : Pourrat Jacques (CH Rangueil – Toulouse)

pourrat.j@chu-toulouse.fr

Nord-Pas-de-Calais: Provôt François (CH Huriet – Lille)

f-provot@chru-lille.fr

Vanhille Philippe (CH – Valenciennes)

Philippe.vanhille@ch-valenciennes.fr

Pays de Loire : Hamidou Mohamed (CH Hôtel-Dieu – Nantes)

mohamed.hamidou@chu-nantes.fr

PACA : Poullin Pascale (CH Conception – Marseille)

pascale.poullin@ap-hm.fr

Picardie: Choukroun Gabriel (CH Sud – Amiens)

choukroun.gabriel@chu-amiens.fr

Rhône-Alpes: Pouteil-Noble claire (CH Lyon-Sud – Lyon)

claire.pouteil-noble@chu-lyon.fr

Réunion: Zunic Patricia (GH Sud-Réunion - la Réunion)

Patricia.zunic@chr-reunion.fr

