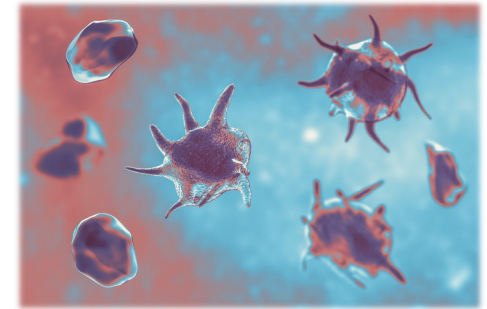
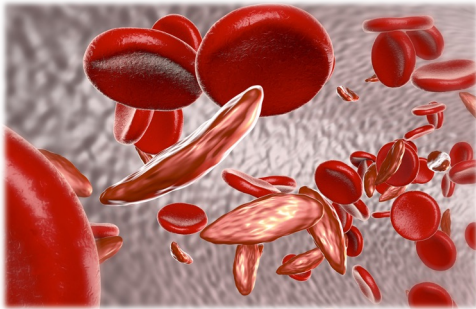


Étude du rôle plaquettaire dans le processus de thrombo-inflammation chez le patient drépanocytaire



Dr Christophe FERREIRA

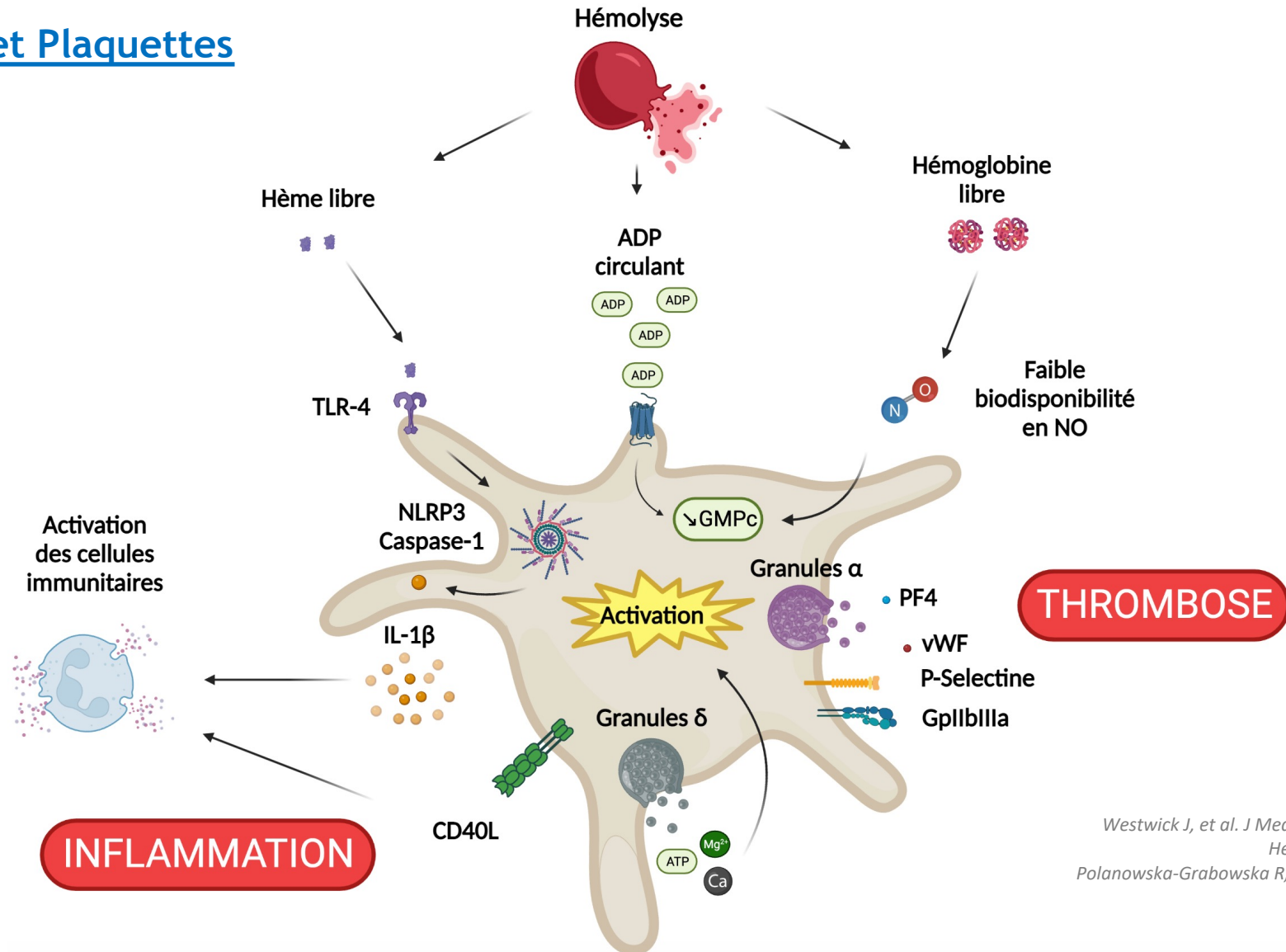
Interne en Médecine Interne

IUCT Oncopole - CHU Toulouse

Directeur de projet : Pr B. Payrastre, I2MC, Équipe 7

Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

Drépanocytose et Plaquettes



Westwick J, et al. J Med. 1983 - Wun T, et al. J Lab Clin Med. 1997
Helms CC, et al. J Thromb Haemost JTH. 2013
Polanowska-Grabowska R, et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2010
Annarapu GK, et al. PLoS ONE. 2016
Daak AA, et al. Blood Adv. 2018

Objectif de l'étude

Évaluation longitudinale des mécanismes plaquettaires dans la dynamique thrombo-inflammatoire chez les patients drépanocytaires pendant et après une crise vaso-occlusive



Introduction - **Méthode** - Résultats - Discussion - Conclusion

Population

- Étude prospective menée au CHU de Toulouse entre janvier et novembre 2023
- Nombre de patients inclus : 10 patients drépanocytaires adultes / 10 témoins
- Étude approuvée par le Comité de Protection des Personnes

Critères d'inclusion :

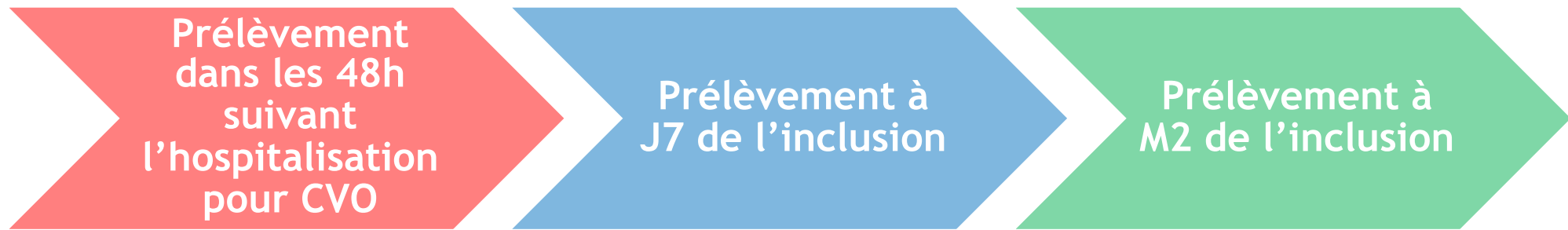
- Syndrome drépanocytaire majeur
- Age > 18 ans
- Hospitalisation pour CVO nécessitant une antalgie IV par opioïdes

Critères d'exclusion :

- Prise d'antiagrégants plaquettaires dans les 10 jours précédant l'hospitalisation
- Prise d'anticoagulants
- Prise d'inhibiteurs de P-Sélectine

Introduction - **Méthode** - Résultats - Discussion - Conclusion

Design de l'étude



- ✓ Analyse des marqueurs d'activation plaquettaire (intrinsèques et solubles)
- ✓ Analyse de la réactivité plaquettaire aux agonistes *ex vivo*
- ✓ Mesure des glycoprotéines de surface membranaire plaquettaires
- ✓ Analyse des paramètres thrombo-inflammatoires
- ✗ Analyse de la formation de thrombus en condition de flux sanguin (microfluidique)
- ✗ Mesure des eicosanoïdes plasmatiques

Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

Caractéristiques générales des patients inclus

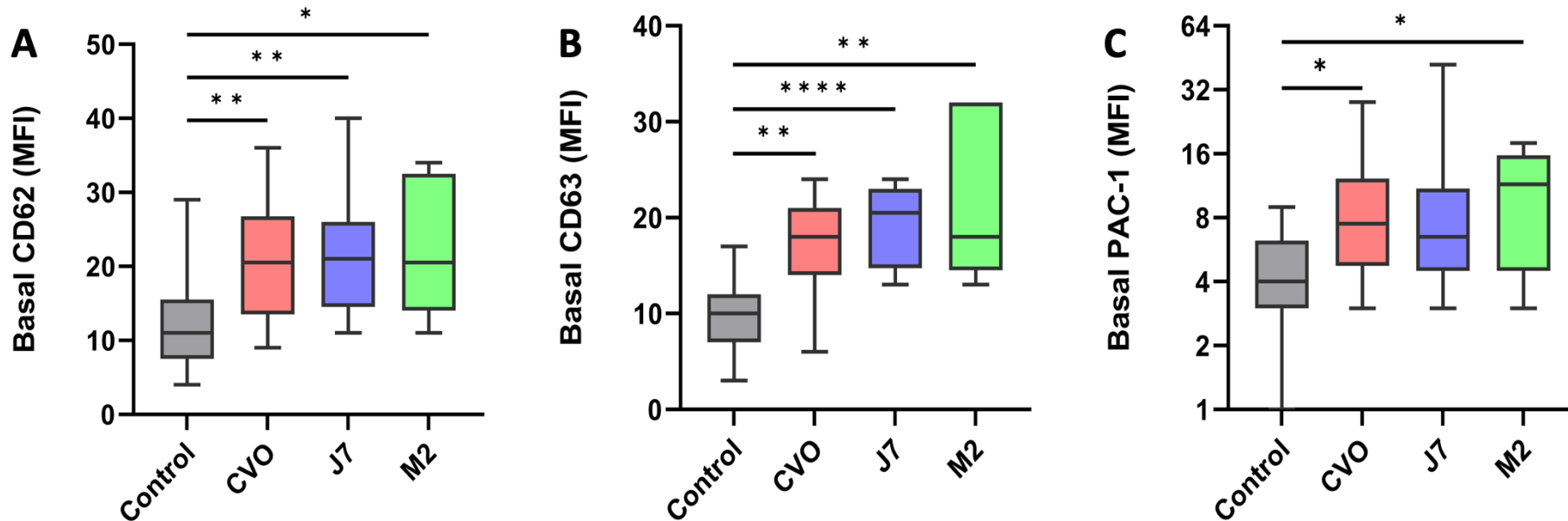
Caractéristiques	Patients inclus (n= 10)
Age médian (min-max)	29 (21-37)
Sexe (F/H)	4 / 6
Génotype, n (%)	
SS (homozygote)	7 (70%)
Sβ° (hétérozygote composite)	2 (20%)
SC (hétérozygote composite)	1 (10%)
Traitement de fond	
Aucun	4 (40%)
Hydroxyurée	4 (40%)
Programme transfusionnel	1 (10%)
Hydroxyurée + Programme transfusionnel	1 (10%)
Durée d'hospitalisation, médiane (min-max)	4,5 (2-13)

Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

Analyse des marqueurs intrinsèques d'activation plaquettaire

Plasma riche en plaquettes (PRP) des contrôles (n= 10) et des patients drépanocytaires (CVO n= 10; J7 n= 10; M2 n= 6)

Cytométrie en flux



Activation plaquettaire chez le patient drépanocytaire au cours de la CVO et à l'état basal

* p< 0,05
** p< 0,01
*** p< 0,001
*** p< 0,0001

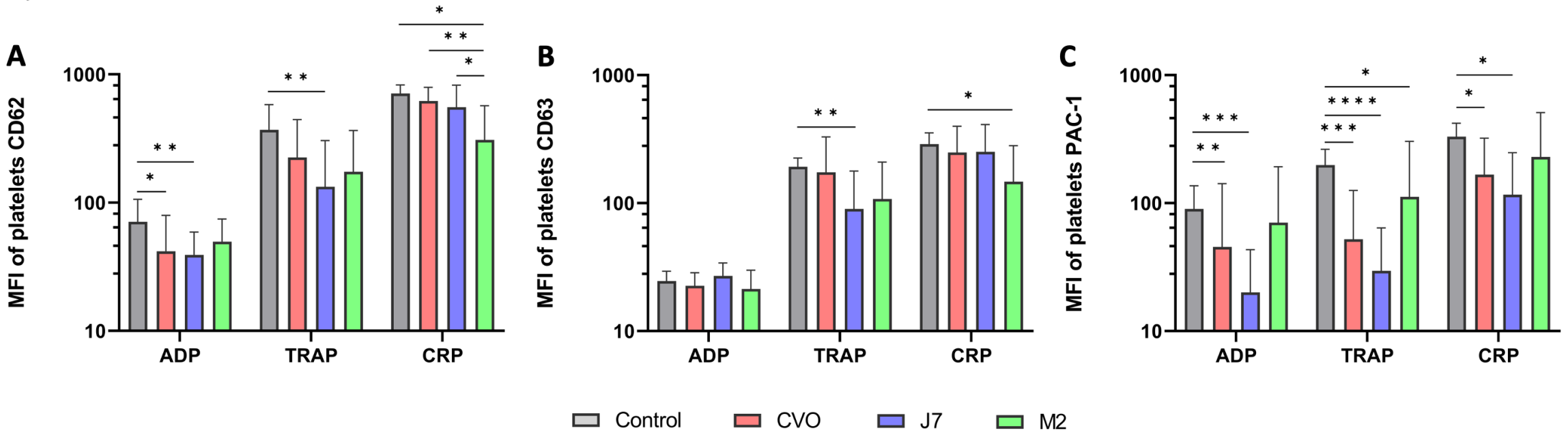
Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

Analyse de la réactivité plaquettaire aux agonistes *ex vivo*

PRP des contrôles (n= 10) et des patients drépanocytaires (CVO n= 10; J7 n= 10; M2 n= 6)

Agonistes : ADP 10 μ M, TRAP 50 μ M et CRP 9 μ g/ml

Cytométrie en flux



* $p < 0,05$
** $p < 0,01$
*** $p < 0,001$
*** $p < 0,0001$

**Diminution de la réactivité plaquettaire aux agonistes (ADP, TRAP et CRP)
ex vivo au cours de la CVO et à J7**

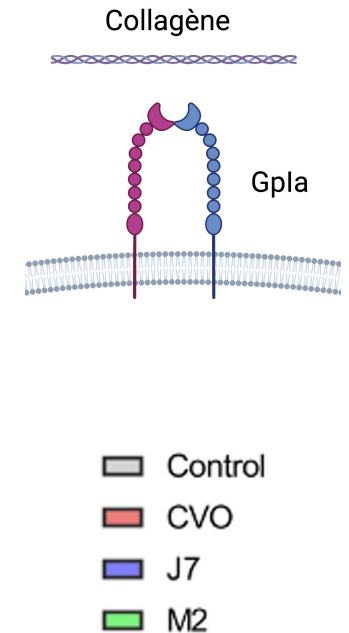
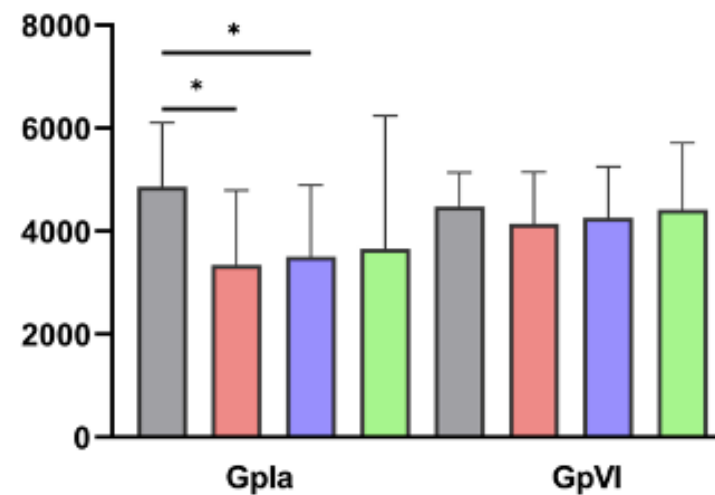
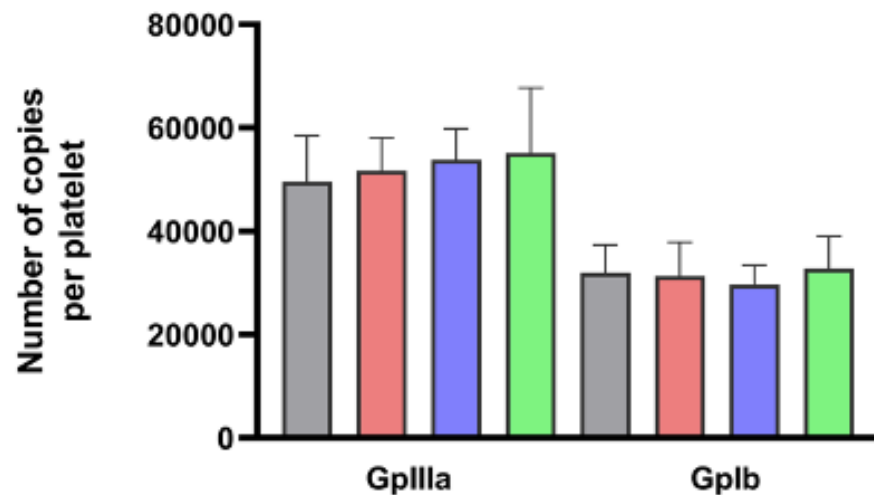
Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

Mesure de la quantité de glycoprotéines à la surface plaquettaire

PRP des contrôles (n= 10) et des patients drépanocytaires (CVO n= 10; J7 n= 10; M2 n= 6)

Kit Gp Screen®

Cytométrie en flux



Diminution de la GpIa à la surface plaquettaire au cours de la CVO et à J7

* p < 0,05

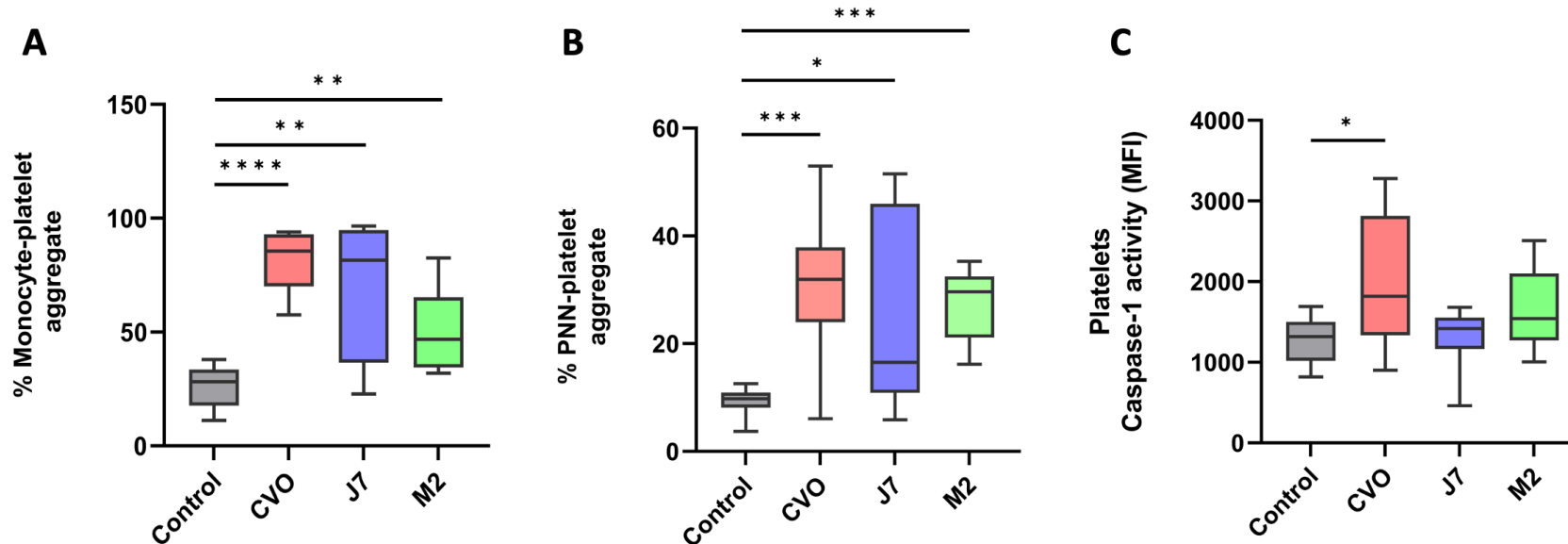
Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

Évaluation de la dynamique des paramètres thrombo-inflammatoires

Sang total et plaquettes lavées des contrôles (n= 10) et des patients drépanocytaires (CVO n= 10; J7 n= 10; M2 n= 6)

Kit FLICA 660® Caspase-1

Cytométrie en flux



Augmentation du taux d'agrégats leuco-plaquettaire chez le patient drépanocytaire

Augmentation de l'activité caspase-1 uniquement au cours de la CVO

* p < 0,05
** p < 0,01
*** p < 0,001
**** p < 0,0001

Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

Activation plaquettaire chez le patient drépanocytaire au cours d'une CVO et à l'état basal

- Cohérent avec les données publiées antérieurement ¹
- Caractère novateur par l'approche longitudinale de l'étude

Diminution de la réactivité plaquettaire *ex vivo* aux agonistes (ADP, TRAP et CRP)

- Une étude a rapporté une diminution de la réactivité plaquettaire en réponse à l'ADP ²
- Hypothèse de désensibilisation plaquettaire (fuite chronique d'ADP, augmentation du taux de thrombine...)

¹ Villagra, et al. Blood. 2007

¹ Wun T, et al. BJH. 1998

² Frelinger, et al. Platelets. 2014

Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

Diminution du nombre de copies de Gpla à la surface plaquettaire au cours de la CVO

- Première description de ce type
- Cohérent avec les résultats préliminaires de notre analyse microfluidique (défaut d'adhésion plaquettaire au collagène lors de la CVO)

Augmentation des agrégats leuco-plaquettaires lors de la CVO, à J7 et M2

- Cohérent avec les données de la littérature ¹
- Interaction plaquettes - système immunitaire inné

Augmentation de l'activité Caspase-1 plaquettaire uniquement lors de la CVO

- Une étude rapportant une augmentation à l'état basal mais aussi lors de la CVO ²
- Cependant patients en crise ≠ des patients à l'état basal

¹ Polanowska-Grabowska, et al. ATVB. 2010

¹ Frelinger, et al. Platelets. 2014

¹ Pittman, et al. Blood. 2021

² Vogel, et al. Blood Adv. 2018

Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

Forces de l'étude

- Évaluation globale et longitudinale de l'activation plaquettaire lors de la CVO, à J7 et M2 chez un même patient
- Étude pilote (faisabilité, validation des tests...)

Limites de l'étude

- Cohorte relativement faible
- Témoins non appariés sur l'âge ni l'ethnie
- Pas de sous-groupes de patients selon le traitement de fond reçu

Merci pour votre attention

Introduction - Méthode - Résultats - Discussion - Conclusion

