

TROISIEME PARTIE :

**LES TROUBLES HEREDITAIRES DE
L'HEMOSTASE PRIMAIRE**

[McCours.com](https://www.mccours.com)

Les troubles héréditaires de l'hémostase primaire concernent les thrombopathies héréditaires ainsi que les différents types de maladie de von Willebrand.

Lorsqu'un test génétique existe, pour chaque maladie concernée, il sera indiqué dans le tableau récapitulatif présenté en annexe 2.

I. THROMBOPATHIES CONSTITUTIONNELLES

A. ANOMALIES DES GLYCOPROTÉINES MEMBRANAIRES

1. Thrombasthénie de Glanzmann

La thrombasthénie de Glanzmann est un défaut héréditaire qualitatif ou quantitatif du complexe glycoprotéique GPIIb/GPIIIa plaquettaire. Le premier cas a été décrit en 1918 par un pédiatre suisse, Edward Glanzmann, chez l'Homme, mais la compréhension du mécanisme de cette maladie n'a été découverte qu'au milieu des années 1970. Des mutations génétiques responsables de la maladie ont été découvertes chez l'Homme en 1990. C'est une maladie rare puisque jusqu'en 2001, seuls 200 cas avaient été décrits dans la littérature [9, 172].

En médecine vétérinaire, le premier cas rapporté l'a été par Dodds en 1967 chez l'Otterhound [15]. Depuis des cas ont été décrits chez le Montagne des Pyrénées et chez le Basset Hound [15]. Néanmoins les études moléculaires chez le Basset Hound n'ont pas confirmé l'existence de la thrombasthénie de Glanzmann ; par conséquent la thrombopathie du Basset Hound sera étudiée ultérieurement.

a. Classification de la thrombasthénie de Glanzmann [81, 172]

La première classification établie par Caen était basée sur le contenu en fibrinogène des granules α plaquettaires et sur le degré de rétraction du clou plaquettaire. La classification actuelle prend également en compte la quantité de complexe GPIIb/IIIa.

a. Thrombasthénie de Glanzmann de type I

Elle représente la grande majorité des cas chez l'Homme et est caractérisée par une déficience majeure en complexe GPIIb/IIIa (< 5 % de la concentration normale), une incapacité des thrombocytes activés à se lier au fibrinogène, une faible concentration en fibrinogène des granules α et une incapacité des plaquettes à s'agréger et à permettre la rétraction du clou plaquettaire.

Les thrombasthénies de Glanzmann décrites chez l'Otterhound et le Montagne des Pyrénées correspondent au type I décrit en médecine humaine. Néanmoins chez l'Otterhound, la maladie semblait associée à un syndrome de Bernard-Soulier puisque de 30 à 80 % des plaquettes avaient une taille géante et une forme atypique lors de l'étude de Raymond et Dodds en 1979. C'est pourquoi on parlait alors de thrombopathie thrombasthénique. Entre temps la maladie a été presque éradiquée chez l'Otterhound. Mais à la fin des années 1980, les descendants des premiers chiens malades présentaient un dysfonctionnement plaquettaire identique à celui présent dans la thrombasthénie de Glanzmann de l'Homme mais sans thrombocytes anormaux [15].

β . Thrombasthénie de Glanzmann de type II

Elle représente 14 % des cas décrits chez l'Homme. Les plaquettes des patients atteints possèdent entre 10 et 20 % de complexe GPIIb/IIIa normaux, se lient faiblement entre elles et au fibrinogène et la rétraction du clou plaquettaire est anormale. Le type II n'est pas décrit, à l'heure actuelle, ni chez le Chien ni chez le Chat [15, 100].

γ . Thrombasthénie de Glanzmann variant

Elle ne concerne que 8 % des cas décrits en médecine humaine. Les thrombocytes des individus atteints ont de 50 à 100 % de la concentration normale en complexe GPIIb/IIIa mais ne se lient ni entre eux ni au fibrinogène. Contrairement aux types I et II, la maladie de Glanzmann est ici due à un défaut qualitatif des complexes GPIIb/IIIa. Le type variant n'est pas décrit, à l'heure actuelle, ni chez le Chien ni chez le Chat [15, 100].

b. Symptômes [81, 172].

α. Chez l'Homme

La thrombasthénie de Glanzmann est caractérisée par des saignements excessifs consécutifs au défaut de formation du clou plaquettaire. Ainsi chez l'Homme elle se traduit majoritairement par des épistaxis sévères mais également par des saignements gastro-intestinaux, des hématomes, des hémorragies gingivales, des hématuries, des métrorragies ou encore des hémarthroses ; ces symptômes apparaissent avant l'âge de 5 ans et diminuent avec l'âge. Les hémorragies spontanées sont rares et elles sont généralement consécutives à un traumatisme, à une chirurgie ou encore à la chute des dents de lait. Chez la femme atteinte, la période de menstruation et l'accouchement sont des périodes à risque majeur.

La sévérité des saignements est impossible à prévoir. Toutefois il arrive que les patients présentent des anémies secondaires au manque de fer suite à de nombreuses hémorragies.

β. Chez le chien [15, 16]

Les chiens atteints présentent des saignements provenant des muqueuses et un allongement du temps de saignement lors de traumatismes ou de chirurgie. Ainsi les signes cliniques sont identiques à ceux retrouvés chez l'Homme.

c. Diagnostic [15]

L'augmentation du temps de saignement amène le clinicien à explorer l'hémostase. Les tests de l'hémostase primaire montrent une numération plaquettaire normale associée à un défaut d'agrégation plaquettaire et de rétraction du clou plaquettaire. L'exploration de la coagulation sanguine ne met en évidence aucun trouble (Temps de Quick et temps de céphaline activée normaux). La mesure de la quantité de facteur de von Willebrand donne des résultats dans les normes. Les résultats obtenus conduisent à suspecter un trouble de la fonction plaquettaire (Tableau 2). Boudreaux et Catalfamo ont étudié la thrombasthénie de Glanzmann chez l'Otterhound [9].

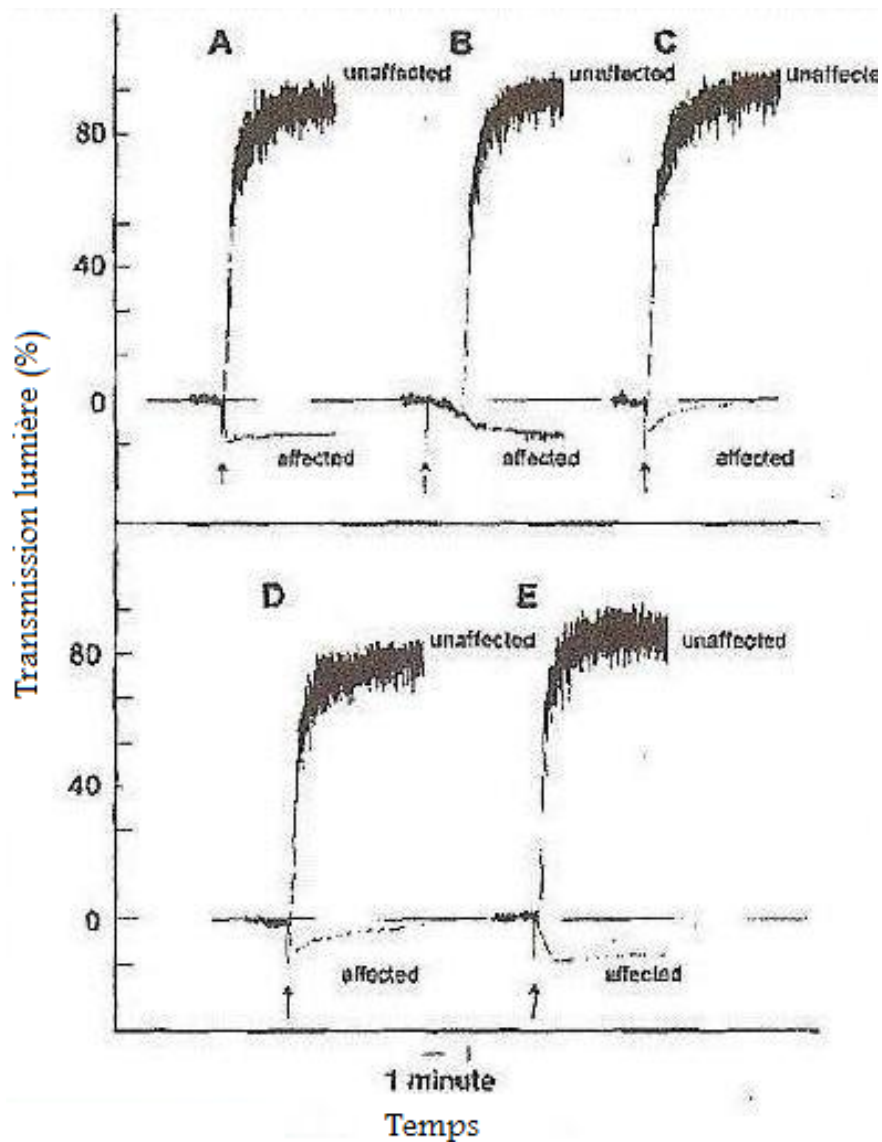
Tableau 2. Comparaison des résultats aux examens complémentaires entre la maladie de von Willebrand et les différents types de thrombasthénie de Glanzmann d'après [16]

| | Maladie de von Willebrand (chien) | Thrombasténie de Glanzmann type I | Trombasthénie de Glanzmann type II et variant |
|-----------------------------|-----------------------------------|--|---|
| Numération plaquettaire | Normale | Normale | Normale |
| Morphologie plaquettaire | Normale | Normale | Normale |
| Agrégation plaquettaire | Normale | Absente/Diminuée | Absente/Diminuée |
| Release plaquettaire | Normale | Normale | Normale |
| Adhésion plaquettaire | Absente/Diminuée | Normale | Normale |
| Rétraction du clou | Normale | Absente/Diminuée | Absente/Diminuée |
| Fibrinogène plaquettaire | Normale | Diminuée | Normale |
| vWF | Absente/Diminuée | Normale | Normale |
| GPIIa/IIIb | Normale | Absente/Diminuée | Normale/Diminuée |
| GPIb/V/IX | Normale | Normale | Normale |
| Récepteur à la vitronectine | Normale | Absente/Augmentée | Normale |
| Mutation GPIIb ou GPIIIa | Non | Chien : GPIIb Homme : GPIIb et GPIIIa | Homme : GPIIb et GPIIIa |

L'agrégation plaquettaire mesurée par turbidimétrie, suite à la stimulation par l'ADP, la thrombine, le collagène ou le PAF, a montré une absence quasi-totale de celle-ci, contrairement à l'agrégation plaquettaire de chiens normaux (Figure 18) [9].

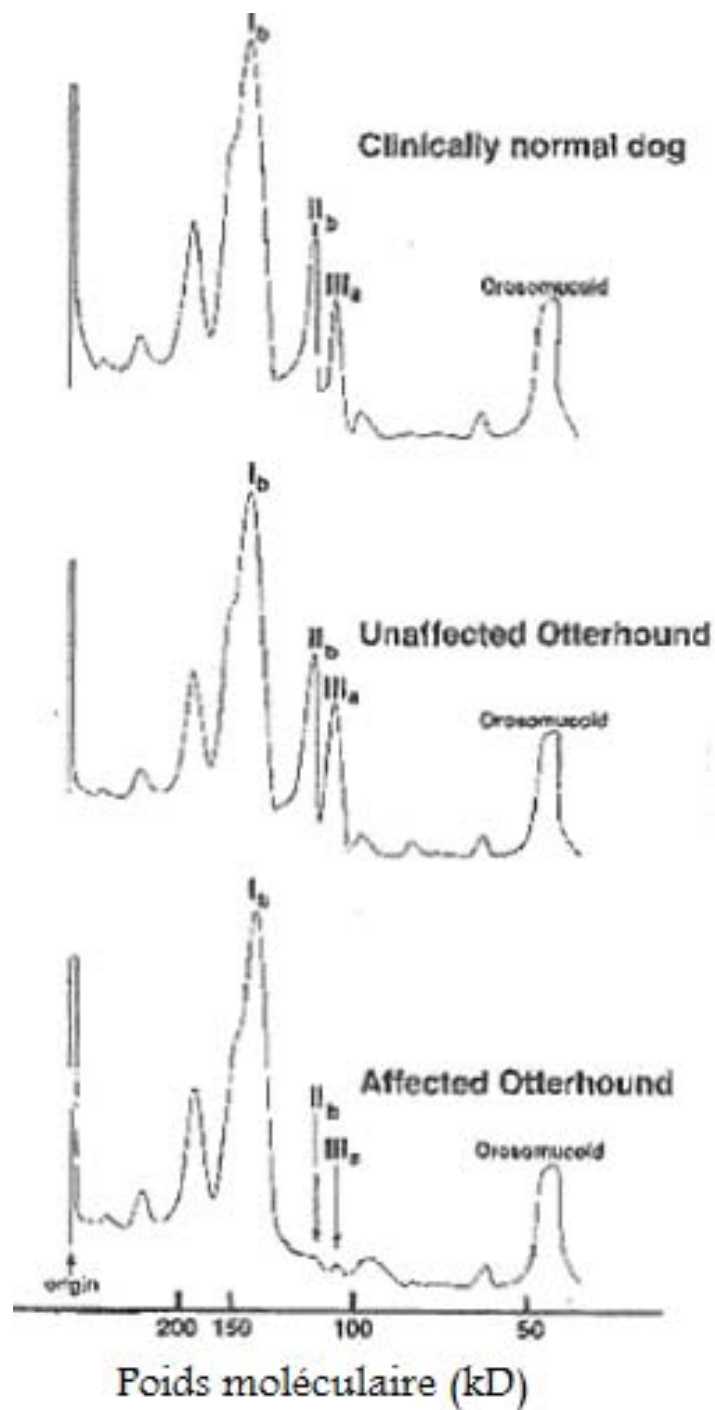
Les auteurs ont également mesuré la distribution des glycoprotéines membranaires chez des chiens sains et atteints de thrombasthénie (de race Otterhound) (Figure 19).

Figure 18. Agrégation plaquettaire en réponse à différents facteurs chez le Chien d'après [9]



Légende : la figure 18 montre qu'en réponse à l'ADP (A), au collagène (B), à la thrombine (C), au PAF (D) et aux ionophores de calcium (E), un Otterhound thrombasthénique (« affected ») ne présente aucune agrégation plaquettaire contrairement à ce qui se passe chez un chien sain (« unaffected »). L'agrégation plaquettaire est mesurée par une augmentation de la transmission de lumière.

Figure 19. Distribution des glycoprotéines membranaires chez le Chien d'après [9]



Légende : la figure présente la distribution des glycoprotéines membranaires chez un chien sain (« *clinically normal dog* »), un Otterhound sain (« *unaffected Otterhound* ») et chez un Otterhound atteint (« *affected Otterhound* »).

Ils ont observé une quasi-absence des glycoprotéines IIb et IIIa (Figure 19) et une augmentation de la quantité de glycoprotéine Ib chez l’Otterhound atteint de thrombasthénie.

Afin de déterminer si le trouble était intrinsèque ou extrinsèque aux plaquettes, Dodds et collaborateurs ont lavé des plaquettes de chiens atteints et chiens normaux puis les ont réincorporés dans les plasmas issus de ces mêmes animaux [16]. Les plaquettes des animaux atteints ne présentaient aucune agrégation dans les deux plasmas ce qui mettait en évidence un défaut intrinsèque des plaquettes.

Chez l'Homme, l'étude des glycoprotéines membranaires par cytométrie de flux ou immunoblot a révélé dans le cas des types I et II des variations de la distribution des glycoprotéines membranaires avec une diminution de la quantité de glycoprotéines II et III et une augmentation de la quantité de glycoprotéines I [81].

d. Support génétique de la maladie

a. *Chez l'Homme*

Les hommes comme les femmes sont touchés en nombre égal par la thrombasthénie de Glanzmann, ce qui suggère un mode de transmission autosomique. Les parents des individus atteints sont dans la plupart des cas asymptomatiques et 25 % des personnes atteintes sont issues d'un croisement consanguin ce qui caractérise un mode de transmission récessif. La maladie est présente au Japon, en Afrique, en Amérique, en France, en Iran ... Bien que son incidence soit faible sur la population globale, son incidence dans les populations consanguines est équivalente à celle de la maladie de von Willebrand ou de l'hémophilie A [81, 195].

Plus de 100 mutations différentes dans les gènes codant pour les glycoprotéines GPIIb et GPIIIa ont été référencées à ce jour [195].

Chez l'Homme, les gènes *ITGA2B* (Integrin $\alpha 2\beta$) codant pour la glycoprotéine GPIIb, et *ITGB3* (Integrin $\beta 3$) codant pour la glycoprotéine GPIIIa sont localisés sur le chromosome 17 en position 17q21.32. Le gène *ITGA2B* est composé de 30 exons et couvre 17.2 kilobases. Quant au gène *ITGB3*, il est composé de 15 exons et couvre 65 kilobases [172].

La variété des mutations touchant les deux gènes est très importante : ont été décrites des délétions, des insertions, des mutations faux-sens, non-sens conduisant à la synthèse de protéines tronquées et/ou anormales. Ont été également décrites des anomalies d'épissage. Les grandes délétions sont plus rares [172].

Toutes ces mutations conduisent soit à une absence de formation du complexe IIb/IIIa (qui se produit dans le réticulum endoplasmique) soit, beaucoup plus rarement, à une abolition de la fonction intégrine du complexe IIb/IIIa pourtant normalement formé. Dans cette dernière situation, c'est fréquemment le gène *ITGB3* qui est muté. En 2001, le mécanisme moléculaire à l'origine de ce phénomène a été identifié. Il s'agissait de la destruction d'un pont disulfure dans la région EGF de la protéine GPIIIa conduisant à la création d'une protéine à activité intégrine constitutive, capable de lier le fibrinogène. L'agrégation plaquettaire n'étant plus possible du fait de l'absence de récepteurs libres permettant l'ancrage des plaquettes les unes sur les autres [190].

β. Chez l'Otterhound

Le séquençage des gènes codant pour les sous-unités GPIIb et GPIIIa est récent chez le Chien. La comparaison des séquences humaines et canines a montré une conservation poussée de certaines régions codant pour des domaines fonctionnelles des protéines. La mutation responsable de la thrombasthénie de l'Otterhound a été identifiée en 1999 dans le gène codant pour la sous-unité GPIIb [15]. Il s'agit d'une substitution d'une base guanine par une base cytosine dans l'exon 12, entraînant le remplacement d'une histidine par un acide aspartique au niveau de troisième domaine de liaison au calcium. Le porteur sain est hétérozygote pour l'allèle muté (Figure 20). Ce changement est responsable d'une déstabilisation du complexe IIb/IIIa conduisant au défaut d'expression du complexe à la surface des plaquettes [15].

Figure 20. Séquence du gène codant pour le troisième domaine de la liaison au calcium de la glycoprotéine plaquettaire GPIIb [9]

| | D | L | ³⁶⁷ D/H | R | D | G | Y | N | D | ³⁷⁴ I/V | A | V |
|----------|-----|-----|------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------------|-----|-----|
| Human | GAC | CTC | GAC | CGG | GAT | GGC | TAC | AAT | GAC | ATT | GCA | GTG |
| Dog | GAC | CTC | GAC | CGG | GAC | GGC | TAC | AAC | GAT | GTT | GCA | GTG |
| OH | GAC | CTC | GAC | CGG | GAC | GGC | TAC | AAC | GAT | GTT | GCA | GTG |
| OHC | GAC | CTC | ^G _C AC | CGG | GAC | GGC | TAC | AAC | GAT | GTT | GCA | GTG |
| Affected | GAC | CTC | CAC | CGG | GAC | GGC | TAC | AAC | GAT | GTT | GCA | GTG |

Légende : cette figure présente une comparaison de la séquence du gène codant pour le troisième domaine de la liaison au calcium de la glycoprotéine GPIIb entre l'Homme (« *Human* »), un chien cliniquement sain (« *Dog* »), un Otterhound cliniquement sain (« *OH* »), un Otterhound porteur du gène muté (« *OHC* ») et deux Otterhounds atteints (« *Affected* »)

γ. Chez le Montagne des Pyrénées

En 2000, Boudreaux et collaborateurs ont montré que la thrombasthénie de Glanzmann observée chez un Montagne des Pyrénées était dû à deux mutations sur le gène. L'épissage de l'intron 13 n'était en effet pas effectué si l'on observait l'ARNm et une insertion de 14 paires de bases était observée au niveau de l'exon 13 du gène codant pour la glycoprotéine GPIIb (Figure 21) [135].

Figure 21. Comparaison des séquences de l'exon 13 du gène codant pour la glycoprotéine GPIIb [135]

```

Normal cDNA
Normal Genomic
Case 1

416            423            427      429
G F G F S L R G A T D I/M D/V D/P
GGCTTCGGCTTCTCCCTGCGAGGTGCCACAGACATCGATGAC
-----
-----G-TGCCA
              †                     †
              1360                   1374

              432 433
              N/Q G/T Y/S P/M
Normal cDNA      AATGGATACCCAG
Normal Genomic  -----gtggccctagaatgcctccagctagccaa
Case 1          CAGAC--CGATGACAATGGATACCCAGGTGGCCCTAGAATGC
              ]      T M D T Q V A L - E C
              1387      (434)                            (443)

Normal Genomic      gaggggctctcgggcattagatggagataatgaaagacacag
Case 1              CTCCAGCTAGCCAAGAGGGGCTCTCGGGCATTAGATGGAGAT
              L Q L A K R G S R A L D G D
              (444)                                 (457)

Normal Genomic      tcaggggtctatgccccgctgagtggtctgacctt
Case 1              AATGAAAGACACAGTCAGGGGTCTATGCCCGCTGA CODON
              N E R H S Q G S M P R Ter STOP
              (458)                                 (468)

```

Légende : les deux premières séquences concernent un chien normal (« normal *genomic* ») et un Montagne des Pyrénées atteint (« case 1 »).

L'insertion affecte la portion de gène codant pour le quatrième domaine de liaison pour le calcium et consiste en une répétition des nucléotides 1360 à 1373. La transcription de cette zone entraîne la formation d'une séquence d'acides aminés complètement modifiée avec notamment l'apparition d'un codon stop précoce. Ceci entraîne l'absence des domaines transmembranaires et cytoplasmiques et d'une partie du domaine extracellulaire de la protéine dont le quatrième site de liaison au calcium nécessaire pour le transport intracellulaire du complexe GPIIb/IIIa jusqu'à la surface des plaquettes.

Le défaut de transcription consécutif à l'insertion des 14 paires de bases serait responsable d'un changement de conformation du préARNm qui rendrait le site d'épissage de l'intron 13 inaccessible [135].

A l'heure actuelle, aucun test génétique n'a été développé pour cette maladie.

e. Traitement

Le traitement mis en place lors d'hémorragies ou avant une chirurgie consiste dans l'idéal à injecter à l'animal du plasma riche en plaquettes (PRP) [17]. La dose recommandée en PRP est de 1 unité / 10 kg. Le PRP est préparé à partir de sang entier de chien normal centrifugé à 1000 g pendant 4 minutes ; il peut s'utiliser immédiatement mais il existe aussi des concentrés de plaquettes congelées. En pratique, le vétérinaire est souvent amené à transfuser du sang total ce qui présente l'avantage de ne pas nécessiter de matériel particulier et compense les pertes sanguines lors d'hémorragies excessives mais il est fortement immunogène et le volume à injecter est plus important. Le développement d'anticorps anti-plaquettes est possible mais d'apparition plus lente car le matériel injecté est en quantité faible.

Chez l'Homme, Poon et collaborateurs ont proposé l'utilisation de facteur VIIa recombiné à une dose d'environ 90 µg/kg toutes les deux heures jusqu'à arrêt des saignements [184]. Le facteur VIIa active la voie intrinsèque et donc la formation de fibrine qui stabilise le clou plaquettaire. Des résultats positifs ont été obtenus chez 23 individus sur 24. Ils préconisent d'utiliser dans le même temps des agents antifibrinolytiques tels que l'acide ε-aminocaproïque (300 à 400 mg/kg/j) ou l'acide tranexamique (75 mg/kg/j). L'apparition d'une thromboembolie a été observée chez l'un des individus traités. Même si avant de généraliser l'utilisation du facteur VIIa chez le Chien, un test à plus grande échelle est à réaliser, ce traitement semble être une bonne alternative à la transfusion de plaquettes chez les sujets développant des réactions immunitaires aux plaquettes [15].

La complication la plus fréquente étant le déficit en fer, des injections de fer parentérales ou orales sont fréquemment requises.

2. Syndrome de Bernard-Soulier

a. Historique et épidémiologie

Le syndrome de Bernard-Soulier ou dystrophie thrombocytaire hémorragipare est une maladie autosomique récessive ou dominante [219] associant une tendance aux saignements, des plaquettes géantes et une thrombocytopénie. Ce syndrome a été décrit pour la première fois en 1948 par Jean Bernard et Jean-Pierre Soulier, deux hématologues français. Leur jeune patient présentait des saignements majeurs avec un temps de saignement prolongé et un faible de nombre de plaquettes dont la taille était plus importante qu'habituellement. D'autres cas ont alors été répertoriés souvent associés à de la consanguinité [141].

La maladie reste extrêmement rare puisque seulement une centaine de cas ont été recensés dans la littérature à ce jour, la plupart dans les populations japonaise, européenne et nord-américaine. La prévalence est estimée à moins de 1 / 1 000 000 mais elle est certainement sous-estimée car sous-diagnostiquée [14, 94, 141].

A ce jour aucun cas n'a été publié chez le Chien ou le Chat. On notera cependant que les premiers cas d'Otterhound atteints de thrombasthénie de Glanzmann, présentaient également un syndrome de Bernard-Soulier, qui n'a pas été retrouvé par la suite [15].

b. Symptômes

Les patients atteints présentent habituellement des manifestations cliniques telles qu'un purpura, des épistaxis, des ménorragies, des saignements gingivaux ou encore des saignements gastro-intestinaux. Lors de traumatismes, les hémorragies se prolongent également de manière importante et sont responsables d'ecchymoses importantes mais cela reste relativement peu fréquent.

Le nombre de plaquettes est très diminué à normal ($< 30\ 000 / \mu\text{L}$ à environ $200\ 000 \mu\text{L}$), mais ces valeurs sont fluctuantes sur l'année chez un même patient.

Les temps de saignements sont quasiment normaux (5 à 10 minutes) à très allongés (> 10 minutes). Ces hémorragies persistantes sont présentes très tôt dans l'enfance mais celles-ci s'aggravent au moment de la puberté et à l'âge adulte. Ces saignements peuvent être révélés à l'occasion d'une chirurgie comme une extraction dentaire, une appendicectomie, une splénectomie ... L'accouchement est aussi une période à risque pour la mère atteinte du syndrome de Bernard-Soulier [133].

c. Etiologie moléculaire

Le syndrome de Bernard Soulier est dû à une déficience ou une dysfonction du complexe GPIb-V-IX dont le rôle est d'intervenir dans l'adhésion plaquettaire au site lésé par l'intermédiaire du vWF. Pour former ce complexe 4 sous unités sont nécessaires : GPIb α , GPIb β , GPV et GPIX respectivement encodés par des gènes situés en position 17p12, 22q11.2, 3q29 et 3q21 sur les chromosomes 17, 22 et 3 chez l'Homme. GPIb α , GPIb β et GPIX sont indispensables pour une biosynthèse normale complexe, GPV n'a aucune incidence sur la fonction du complexe. En 2006, 47 défauts génétiques différents responsables du syndrome de Bernard-Soulier ont été identifiés : 20 mutations de GPIb α , 16 de GPIb β et 11 de GPIX [133].

L'étude des différents cas a montré une transmission autosomique récessive de la maladie. Toutefois un cas de transmission autosomique dominante a été décrit dans certaines familles [219].

d. Diagnostic

Le syndrome de Bernard-Soulier est souvent sous-diagnostiqué et en médecine humaine est souvent pris pour un purpura thrombocytopénique idiopathique pour lequel ni les corticoïdes ni la splénectomie ne permettent alors de guérison.

L'allongement du temps de saignement permet une première orientation vers un trouble de l'hémostase primaire. La réalisation d'un hémogramme et d'un frottis sanguin montre une thrombocytopénie (typiquement entre 20 000 et 100 000 plaquettes / μ L) et des plaquettes de forme arrondie (volume = 11 à 16 μ m³ et diamètre = 4 à 10 μ m). Un comptage manuel des plaquettes est souvent nécessaire car leur modification de taille fait que les appareils de comptage automatique les comptent souvent comme des lymphocytes [133].

Une étude de l'agrégation plaquettaire par un agrégomètre révèle un défaut isolé d'agglutination induite par la ristocétine, non corrigé par une addition de plasma normal, contrairement à ce qui se passe dans la maladie de von Willebrand [133].

Un défaut de consommation de la prothrombine est souvent associé et peut être utile pour le diagnostic. Celui-ci est attribué à un déficit de liaison du facteur IX consécutif à un manque de GPIb.

Une cytométrie de flux utilisant un panel d'anticorps monoclonaux spécifiques (CD42 a-d) confirme le diagnostic de syndrome de Bernard-Soulier. Il existe d'autres tests disponibles dans les unités de recherche pour l'étude des glycoprotéines de membrane tels que la séparation sur gel ou

des techniques d'immunoblotting. Enfin des études génétiques sont aussi possibles dans ces laboratoires [133].

e. Traitement

α. Traitement hygiénique

Il n'existe pas de traitement spécifique de la maladie. Les patients atteints sont amenés à éviter les traumatismes et les traitements antiplaquettaires comme l'acide acétylsalicylique (Aspirine®). Ces patients doivent avoir une hygiène buccodentaire irréprochable pour éviter toute maladie gingivale et limiter les besoins d'intervention dentaire. Les femmes atteintes doivent utiliser des produits contraceptifs dès la puberté pour éviter les ménorrhées. Les saignements fréquents peuvent induire un déficit en fer qui est à corriger rapidement pour éviter toute anémie [141].

β. Traitement médical

Les transfusions multiples de plaquettes peuvent amener à développer des anticorps anti-plaquettes. Les injections de desmopressine ou de facteur VIIa recombinant permettent de réduire le temps de saignement des patients [133].

Chez les patients dont le pronostic est engagé, la transplantation de moelle osseuse ou de cellules souches hématopoïétiques issues du cordon ombilical est à considérer. Dans certains cas la splénectomie a permis une amélioration lors de saignements majeurs mais les risques opératoires importants limitent l'intérêt [133].

B. ANOMALIES DE TRANSDUCTION DU SIGNAL

1. Thrombopathie du Basset Hound

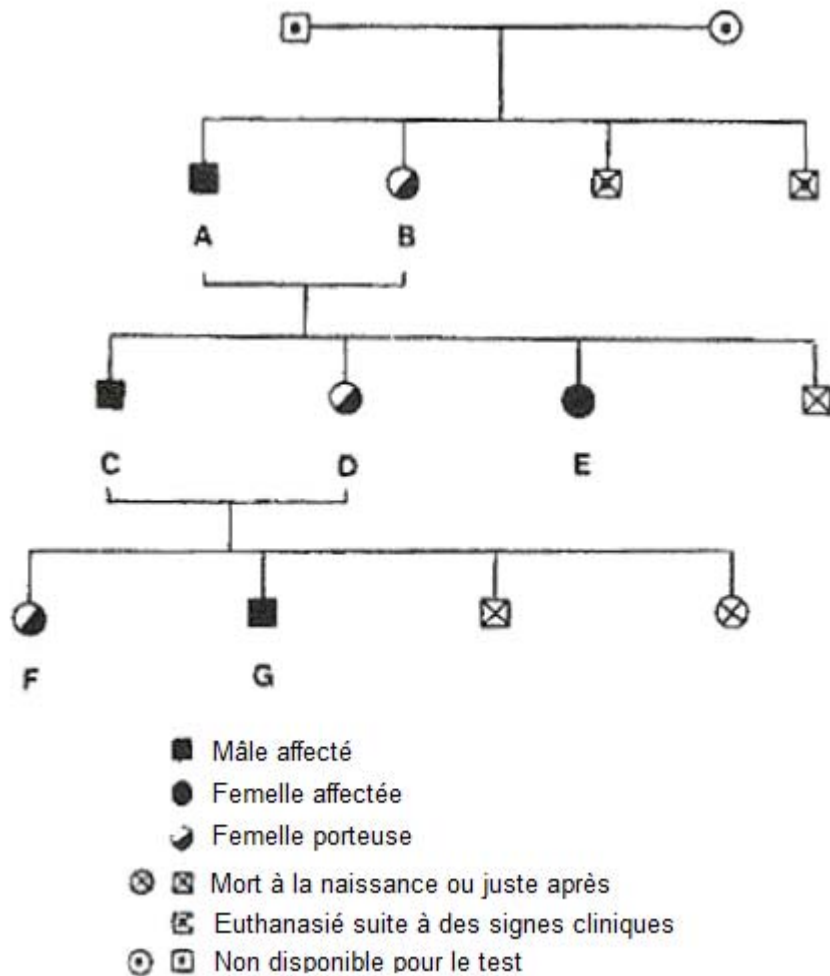
a. Premiers cas décrits

Johnstone et Lotz en 1979 ont décrit pour la première fois une thrombocytopathie héréditaire dans une famille de Basset Hound [115]. En effet plusieurs individus de la lignée, aussi bien mâles que femelles, ont été présentés pour une tendance marquée au saignement et à l'allongement du temps du saignement caractérisés notamment par des anémies, des saignements gingivaux et gastrointestinaux, des paralysies, qui ont conduit à l'euthanasie chez certains chiens. Des chiens asymptomatiques mais porteurs ont également été détectés lors de l'étude des apparentés. Le pédigree obtenu est rapporté sur la figure 22.

Il permet de conclure à une transmission autosomique récessive.

L'étude des voies intrinsèques et extrinsèques de la coagulation n'a révélé aucune anomalie. Le temps de saignement était fortement allongé (supérieur à 15 minutes chez les animaux présentant des signes cliniques). L'examen des plaquettes au microscope n'a montré aucune différence entre les animaux sains et malades, la quantité de thrombocytes est identique dans les deux cas. La rétraction du clou plaquettaire était elle aussi normale. Des tests spécifiques de l'activité plaquettaire (test dérivé du test de Borchgrevink) ont mis en évidence un défaut de consommation plaquettaire lors de blessures vasculaires locales. De plus les interactions des plaquettes avec des billes de verre étaient réduites chez les animaux atteints (3 % contre 27 % chez les chiens sains). Sous l'influence de l'ADP, l'agrégation plaquettaire était réduite chez les homozygotes mais pas chez les hétérozygotes, alors que, sous l'influence du collagène, elle était réduite dans les deux cas de figure. La thrombine, quant à elle, induisait une réponse normale mais retardée.

Figure 22. Pedigree d'une famille de Basset Hound atteinte de thrombopathie d'après [115]



Ces résultats ont montré que l'utilisation du temps de rétraction plaquettaire dans la mise en évidence de troubles plaquettaires était insuffisante pour le diagnostic puisqu'il était normal chez tous les individus.

L'ADP semblait suffisant pour permettre un temps de saignement normal chez les individus porteurs sains et compensait le manque de réaction vis-à-vis du collagène.

b. Caractérisation de la thrombopathie du Basset Hound

Un défaut structurel et/ou fonctionnel des récepteurs membranaires est à l'origine de cette maladie [115].

Boudreaux et collaborateurs, en 1985, ont constaté que la concentration en AMPc des thrombocytes de Bassets touchés était anormalement augmentée (concentration supérieure de 30 à 90 % de la concentration normale). Le calcium était alors séquestré dans le cytoplasme, ce qui entraînait un défaut de sécrétion plaquettaire et d'expression des complexes GPII β /III α à l'origine du défaut d'agrégation. Ainsi a été émise l'hypothèse d'un défaut de transduction du signal d'activation plaquettaire par l'AMPc.

La morphologie plaquettaire au microscope électronique était normale [43]. L'étude des glycoprotéines membranaires ne montrait aucune anomalie. Un défaut de sécrétion des granules denses était toutefois remarqué.

La stimulation plaquettaire par la thrombine et l'ADP était à l'origine d'une augmentation intracellulaire en calcium (relargage de calcium de sites intracellulaires et afflux de calcium extracellulaire). Dans le même temps la thrombine et le collagène entraînaient la formation de 1,2 diacylglycérol qui agissait en coordination avec le calcium comme second messenger dans l'activation plaquettaire en augmentant l'affinité de la protéine C kinase pour le calcium. Quant à l'AMPc, il antagonisait la mobilisation de calcium en facilitant le stockage de calcium dans les sites de stockage intracellulaire et il était aussi connu qu'il pouvait inhiber l'hydrolyse des inositols et donc la formation de 1,2 diacylglycérol. En 1986, Boudreaux et collaborateurs ont montré que la concentration plaquettaire élevée en AMPc était consécutive à un défaut d'activité de la phosphodiesterase [14].

2. Thrombopathie du Spitz

Les deux premiers cas décrits dans la littérature concernent deux Spitz femelles âgées respectivement de 3 ans et demi et 13 mois [11].

La première chienne a été présentée en consultation pour un épistaxis bilatéral apparu consécutivement à l'administration d'antibiotiques. Son examen clinique a montré un animal abattu qui présentait des selles noires laissant penser à un méléna. Les premières chaleurs de cette chienne n'ont pourtant pas donné lieu à des saignements excessifs.

Quant à la deuxième chienne, elle a été présentée pour des saignements chroniques depuis l'âge de 6 mois. L'examen clinique a montré la présence de nombreux hématomes sous-cutanés, des

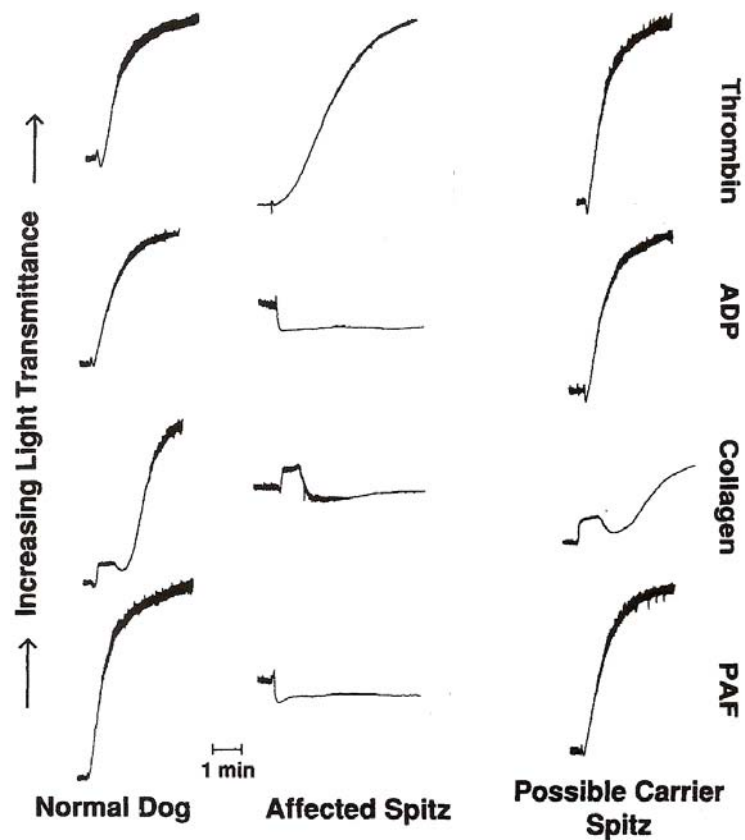
saignements gingivaux et des douleurs aux niveaux des membres après l'exercice. La coupe trop courte d'une griffe a notamment amené un saignement pendant plus de 30 minutes et un épisode d'hématémèse a également été rapporté.

Les examens sanguins réalisés chez ces deux chiennes ont révélé une anémie plus ou moins marquée, un nombre de plaquettes normal et des temps de coagulation normaux. Les valeurs de concentration en antigène de Von Willebrand étaient respectivement de 150 et 49 % par rapport au témoin. Enfin les valeurs des produits de dégradation de la fibrine étaient comprises entre 10 et 40 µg/dL. Aussi des études de l'agrégation, du *release*, de cytométrie de flux et une analyse en microscopie électronique des plaquettes ont été faites.

Les plaquettes des animaux atteints ont montré une absence d'agrégation en présence d'ADP, de PAF ou de collagène ; par contre en présence de thrombine une agrégation était possible même si celle-ci était retardée et lente à se mettre en place (le temps de réponse à la thrombine était chez l'animal témoin d'environ 3 minutes contre 4,5 à 6 minutes chez les Spitz atteints (Figure 23)). L'examen au microscope électronique n'a révélé aucune anomalie des plaquettes des animaux touchés [11].

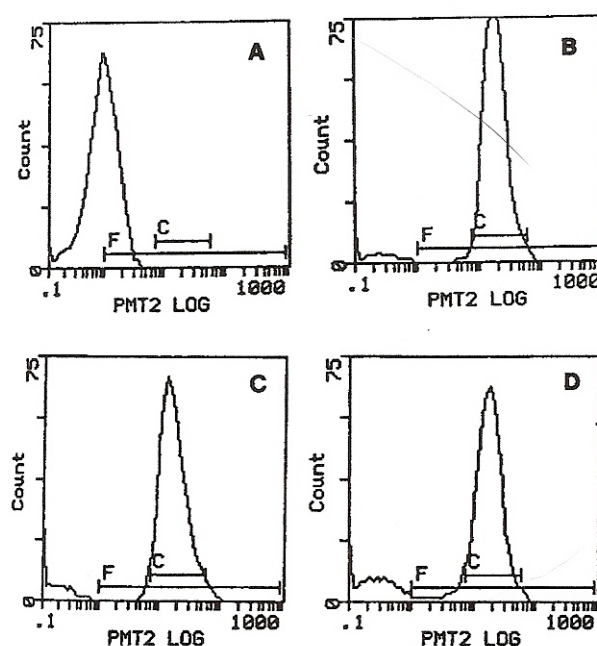
La cytométrie de flux à partir d'anticorps monoclonaux anti-GPIII α humain a indiqué, que contrairement à ce qui se retrouve chez les animaux atteints de thrombasthénie de Glanzmann, le pic de fluorescence de GPIII α était identique à celui des animaux normaux dans le cas des Spitz malades (Figure 24). L'étude du pedigree d'un des deux animaux n'a pas permis de trouver trace d'autres animaux atteints même si chez les deux mâles provenant de la même lignée, l'agrégation suite à l'ajout de collagène était diminué [11].

Figure 23. Représentation de l'agrégation plaquettaire chez le Spitz [11]



Légende : la figure montre la mesure de l'agrégation plaquettaire (par mesure de la transmission lumineuse) en présence de concentrations évaluées à 0.15 μ mole pour la γ -thrombine (« *Thrombin* »), 100 μ mole pour l'ADP, 12 μ g/mL pour le collagène (« *Collagen* ») et 2 μ mole pour le PAF chez un chien normal (« *Normal Dog* »), un Spitz atteint (« *Affected Spitz* ») et chez un Spitz éventuellement porteur (« *Possible Carrier Spitz* »).

Figure 24. Profil d'immunofluorescence de plaquettes chez le Spitz [11]



Légende : les profils intéressent un Otterhound atteint de thrombasthénie de Glanzmann (« A »), d'un chien normal (« B »), d'un Spitz atteint (« C ») et d'un Basset Hound atteint de thrombopathie canine (« D »).

Ainsi la thrombopathie du Spitz ressemble beaucoup à la thrombopathie du Basset Hound. Des cas de thrombopathies du même type ont été décrits dans d'autres races comme le Labrador Retriever, le Boxer ou le Landseer.

3. Etiologie moléculaire de la thrombopathie du Basset Hound, du Spitz et du Landseer [10]

Boudreaux et collaborateurs ont étudiés, en 2006, un type de thrombopathie dans trois races : le Basset Hound, le Spitz et le Landseer. L'analyse génétique a montré que des mutations sur le gène codant pour le CalDAG-GEFI (*Calcium-Diacylglycerol Guanine Nucleotide Exchange Factor 1*) était retrouvée à chaque fois. Trois mutations distinctes ont été détectées, touchant des régions importantes pour la fonction de la protéine et par

conséquent dans l'agrégation plaquettaire. Pour autant aucun test génétique n'a encore vu le jour à l'heure actuelle.

4. Autres thrombopathies décrites

a. Chez le Chien

Callan et collaborateurs, en 2001, ont rapporté deux cas possibles de thrombopathies liées à un défaut de transduction du signal : le premier cas chez un Boxer et le deuxième chez une chienne croisée [39]. L'apparition précoce des symptômes a fait suspecter un trouble héréditaire.

α. Premier cas [39]

Le premier cas concernait un chien Boxer, mâle castré de 2 ans qui présentait des saignements prolongés. La présence d'une hémorragie scrotale et de nombreuses ecchymoses périscrotales a fait suite à la castration à l'âge d'un an. Des saignements rectaux ont également été rapportés peu avant l'opération. Enfin malgré les points de suture cutanés, une plaie cutanée consécutive à une lacération a continué de saigner régulièrement pendant 15 jours.

Les examens complémentaires réalisés dans un premier temps (hémogramme, examen biochimique, temps de coagulation, concentration en facteur de von Willebrand) ont donné des valeurs dans les normes. Par contre le temps de saignement buccal apparaissait supérieur à 7 minutes (norme < 4 minutes) ce qui traduisait probablement un trouble de l'hémostase primaire.

β. Deuxième cas

Le deuxième cas a concerné une chienne croisée de 10 mois souffrant de saignements prolongés : hématochiasis à l'âge de 14 semaines, saignements prolongés à la perte des dents de lait, formation intermittente de pétéchies et d'hématomes. Tout comme dans le cas précédent, des examens identiques ont été réalisés et seul le temps de saignement buccal était prolongé (supérieur à 8 minutes) et n'était pas affecté par une injection de 1 µg/kg de desmopressine.

L'ovariohystérectomie pratiquée à l'âge d'un an entraîna des saignements majeurs durant l'intervention malgré un contrôle strict de la cautérisation et des ligatures. Le lendemain de

l'opération, des hématomes ont été retrouvés au niveau du cathéter intraveineux et sur la zone d'incision.

γ. Etude de ces thrombopathies

L'étude de l'agrégation plaquettaire en réponse à différents agonistes a montré une nette diminution de la réponse des plaquettes des deux chiens étudiés en présence d'ADP et de collagène, et une réponse correspondant à environ la moitié de la réponse normale vis-à-vis de la thrombine (tableau 3). L'agrégation plaquettaire mesurée à l'agrégomètre chez les 2 chiens atteints a montré un déficit net dans les deux cas (Figure 25).

Tableau 3. Agrégation plaquettaire de chiens normaux et de chiens thrombopathiques mesurée à l'agrégomètre d'après [39]

| Agoniste | Concentration | Pourcentage d'augmentation de la transmittance | | |
|-----------|---------------|--|-------|------|
| | | Chiens normaux (n = 5) | Cas 1 | Cas2 |
| ADP | 10 µmol | 64 +/- 7 | *MP | 4 |
| | 20 µmol | 72 +/- 16 | *MP | 2 |
| | 50 µmol | *ND | 13 | 1 |
| | 100 µmol | *ND | 5 | 2 |
| Collagène | 20 µg/mL | 65 +/- 8 | *MP | *ND |
| | 50 µg/mL | 91 +/- 10 | *MP | 8 |
| | 100 µg/mL | *ND | 5 | 12 |
| Thrombine | 0,5 U/mL | 72 +/- 14 | *ND | 48 |
| | 1 U/mL | 98 +/- 3 | 43 | 67 |

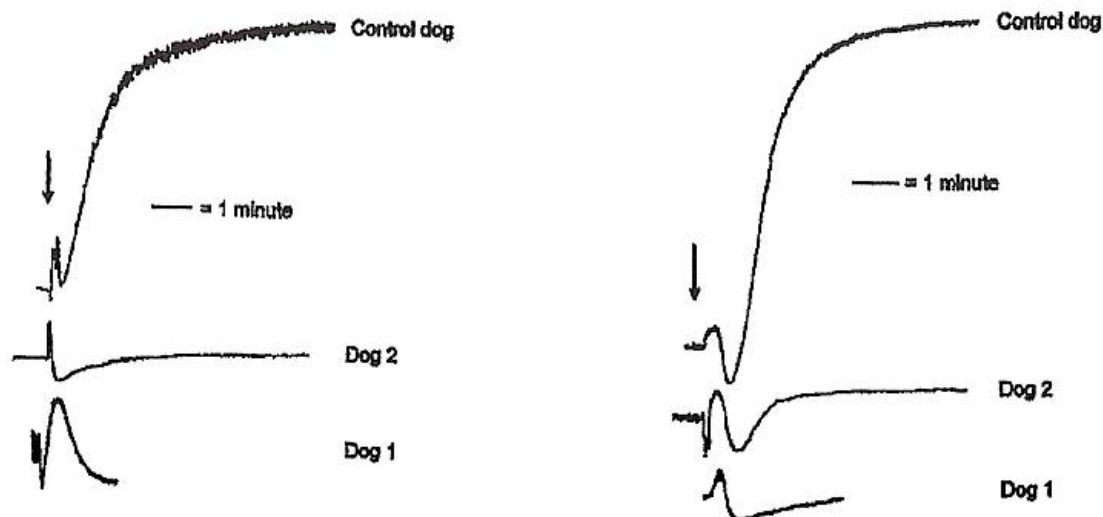
(*ND = non déterminé ; *MP = uniquement modifications de la structure plaquettaire)

Alors que l'existence d'une première vague d'agrégation en présence d'un agoniste laissait à penser à un trouble de la sécrétion plaquettaire, on a constaté que, chez les chiens atteints :

- les concentrations en ADP et en ATP des plaquettes étaient normales,
- le ratio ATP/ADP était dans les valeurs usuelles,
- les quantités de mitochondries, de granules denses, de granules α et de réticulum étaient normales.

Ces résultats excluaient un problème de défaut de sécrétion plaquettaire (*release*) de type maladie du pool vide (anomalie de la sécrétion des granules denses ou granules δ) (voir chapitre C de ce paragraphe).

Figure 25. Agrégation plaquettaire mesurée à l'agrégomètre [39]



Légende : ces graphes concernent l'agrégation plaquettaire, dans deux cas de thrombopathies, de chiens thrombopathiques (« *Dog 1* » et « *Dog 2* ») en comparaison avec un chien témoin (« *Control dog* »).

L'étude de la morphologie thrombocytaire a indiqué que les plaquettes du chien 1 étaient normales alors que les plaquettes du chien 2 étaient plus grandes que la moyenne. La microscopie électronique a révélé la présence de récepteurs GPIIb/IIIa et GPIb chez le chien 1 mais n'a été étudié chez le chien 2 ; toutefois, les résultats obtenus pour l'agrégation plaquettaire excluait toute thrombasthénie de Glanzmann. De la même manière, le chien 2 ne possédait aucun argument en faveur d'autres maladies décrites chez l'Homme telles que l'anomalie de May-Hegglin, le syndrome d'Epstein, ...

Les profils d'agrégation des deux chiens suggéraient un trouble de la transduction du signal responsable d'un défaut de sécrétion semblable à la thrombopathie du Spitz. Néanmoins aucune étude n'a permis de dire si ce trouble touchait l'acide arachidonique, la cyclooxygénase, la synthèse

de thromboxane A2, les récepteurs au thromboxane A2 ou la mobilisation du calcium intracellulaire [39].

b. Chez le Chat. [38]

En 2000, Callan et collaborateurs ont rapporté deux cas de thrombopathies chez deux chats domestique à poils courts sans lien de parenté. L'un de ces chats présentait notamment des anomalies plaquettaires laissant penser à une anomalie de transduction du signal responsable de troubles de la concentration en nucléotides et d'un défaut de relargage (*release*) des granules plaquettaires [38].

Un chat mâle castré domestique à poils courts de 1,5 an a été présenté pour des épistaxis spontanés fréquents contrôlés par des injections intranasales d'épinéphrine. D'autre part, des pétéchies au niveau des oreilles et des saignements gingivaux étaient également présents de manière intermittente. Pour autant lors de la castration aucun saignement particulier n'a été rapporté. Les temps de coagulation, la concentration plasmatique en vWF, la morphologie plaquettaire en microscopie électronique avaient des résultats dans les normes. La numérotation thrombocytaire indiquait une légère thrombocytopénie (100 000 plaquettes / μ L alors que les valeurs normales sont comprises entre 200 000 et 500 000 plaquettes / μ L). L'agrégation plaquettaire en présence d'ADP ou de collagène était fortement diminuée, mais un clou plaquettaire se formait en présence de thrombine. Enfin les concentrations en nucléotides plaquettaires étaient normales.

Ces résultats orientaient donc plutôt vers une anomalie de transduction du signal semblable à celle rencontrée chez l'Homme ou le Chien. L'hérédité de cette maladie n'a pas pu être explorée par absence d'apparentés disponibles.

C. ANOMALIES DES GRANULES DENSES

1. Maladie du pool vide du Cocker américain

a. Symptômes

En 1995, Callan et collaborateurs ont décrit un nouveau type de thrombopathies dans trois familles de Cocker américain [36]. Cette maladie provoque des saignements modérés à sévères suite à des traumatismes mineurs, à des prises de sang ou à une chirurgie. Cinq chiens ont ainsi été étudiés :

➤ Famille 1 :

- Un chien mâle qui présentait depuis l'âge de 8 mois des saignements réguliers et qui est mort d'une hémorragie oro-pharyngée. Dans la même lignée, des cas de tendance au saignement ont été rapportés : un de ses frères de portée est mort à l'âge de 6 mois suite à une hémorragie massive et deux autres chiens dont le cas suivant,
- Une chienne ayant les mêmes parents mais appartenant à une portée ultérieure, et n'ayant pas présenté de signes cliniques.

➤ Famille 2 :

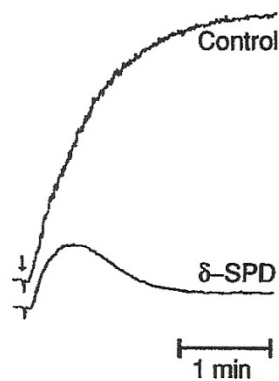
- Un chien mâle de 10 ans qui présentait des saignements chroniques de l'intestin,
- Une chienne, sœur de portée du chien précédent, chez laquelle une anémie régénérative sévère sans signes d'hémolyse ni source de saignement a été rapportée. Suite à un accouplement avec le chien précédent sont nés plusieurs chiots qui sont tous mort d'hémorragies.

➤ Famille 3 :

- Un chien mâle de 12 ans qui présentait des tumeurs prostatiques et vésicales auxquelles étaient associés une hématurie et un hématome intravésical.

Certains chiens étant nés de parent sain, une transmission autosomique récessive a rapidement été suspectée. Les tests sanguins réalisés chez tous ces chiens n'ont pas montré de thrombopénie ; les tests de coagulation et le dosage du facteur de von Willebrand étaient normaux. Cependant le temps de saignement était allongé sur 4 des 5 chiens et l'agrégation plaquettaire en réponse à la présence d'ADP et de collagène était déficiente (Figure 26). Le profil d'un chien présentait un début d'agrégation avant un arrêt, laissant penser à un déficit de sécrétion plaquettaire.

Figure 26. Agrégation plaquettaire en réponse à l'ADP chez un Cocker [36]



Légende : la courbe du haut (« control ») est la courbe obtenue pour un cocker sain alors que celle du bas (« δ-SPD ») est celle obtenue chez un Cocker atteint de maladie du pool vide.

b. Etiologie

Les plaquettes d'un animal normal contiennent des quantités d'ATP et d'ADP équivalentes à celles retrouvées chez l'Homme. Ainsi dans les thrombocytes humains, les granules denses plaquettaires concentrent 65 % du total en ATP et en ADP ; les 35 % restants se situent dans le cytoplasme. Le ratio ATP/ADP est à peu près constant : il est de 2/3 dans les granules denses et de 9/1 dans le cytoplasme ; le ratio global plaquettaire est par conséquent inférieur à 2,5 chez un chien sain. Hors dans le cas présent le ratio ATP/ADP mesuré dans les plaquettes des chiens atteints était de 8,2 contre 1,9 pour les chiens témoins. Il a également été noté une diminution de l'ADP mais une quantité d'ATP normale. Chez l'Homme, lors de défaut de stockage dans les granules denses encore appelé maladie du pool vide ou « *δ-storage pool defect* » une telle augmentation du ratio est retrouvée [36].

Afin d'évaluer les capacités de stockage des granules plaquettaires, une étude de la capture et de la rétention de sérotonine a été effectuée. En effet la sérotonine n'est pas synthétisée par le thrombocyte mais est captée dans l'environnement avant d'être stockée dans les granules denses [36]. En cas d'anomalie de stockage, la sérotonine n'est pas gardée dans les granules et est alors métabolisée par la monoamine oxydase présente dans le cytoplasme ce qui libère des métabolites dans le milieu. Callan et collaborateurs ont donc laissé des plaquettes de chiens atteints et de chiens sains en présence de sérotonine, marquée par le carbone 14 radioactif, afin d'évaluer les capacités

de captation et de rétention des plaquettes de chiens atteints. Il s'est avéré que ces capacités n'étaient pas altérées chez les chiens atteints.

L'étude au microscope électronique des plaquettes des Cockers touchés ne montrait aucune différence dans le nombre et l'apparence de celles-ci par rapport aux chiens témoins.

Ces résultats suggèraient une anomalie de stockage des granules denses plaquettaires qui contrairement au « *δ-storage pool defect* » de l'Homme ne modifiait pas la quantité et l'apparence des granules denses. La captation et la rétention de la sérotonine étant normales, le déficit en ADP semblait être consécutif à un défaut de transport de l'ADP dans les granules denses. Le mécanisme moléculaire n'a, à ce jour, toujours pas été rapporté dans la littérature.

c. Des gènes candidats pour la maladie du Cocker

Différents gènes ont été découverts comme impliqués dans la sécrétion des granules denses.

L'étude de lignées de souris *Rab27b Knock-Out* (souris transgéniques inactivés pour le gène *Rab27b*) a montré l'apparition de troubles de l'hémostase chez les souris homozygotes *knock-out*.

L'étude de ces troubles a révélé une diminution du nombre et de la sécrétion des granules denses.

La morphologie et la fonction des granules α plaquettaires n'étaient pas altérées. Ces données suggèraient que le gène *Rab27b* jouait un rôle dans la régulation de la sécrétion des granules denses et est un gène candidat pour le « *δ-storage pool defect* » de l'Homme et du Cocker [211].

Chez l'Homme, 15 gènes ont été identifiés comme impliqués dans le syndrome de Hermansky-Pudlak, qui se manifeste, entre autres, par un temps de saignement allongé associé à des anomalies des granules plaquettaires [220]. Enfin, les gènes *Rab38* et *ABCC4* ont été mis en évidence récemment comme, respectivement, effecteurs du développement et du stockage des granules denses [109, 171].

2. Syndrome de Chédiak-Higashi chez le chat Persan

Le syndrome de Chédiak-Higashi est une maladie décrite dans six espèces à savoir l'Homme, la Souris, la Vison, la Vache, l'Orque et le Chat Persan. Il se caractérise, selon l'espèce, par un albinisme oculo-cutané partiel, associé à des granules de mélanine géants, par une sensibilité importante aux infections dues à de nombreux défauts de la fonction leucocytaire et par des symptômes hémorragiques.

a. Description clinique et étiologie

α. Symptômes

Kramer et collaborateurs ont été les premiers à décrire la maladie en 1977 chez trois chats Persans issus d'une famille de 27 chats [127]. Tous les chats atteints avaient une robe couleur « *blue smoke* » de teinte anormalement claire et des yeux de couleur jaune, vert ou vert-jaune clair alors qu'on attendait une coloration cuivrée. L'hypopigmentation oculaire se traduisait par une zone de tapis rouge lorsque celle-ci est éclairée au transilluminateur, alors que chez un chat normal elle était de couleur jaune-vert [158]. Chez certains chats étaient présents une photophobie et un nystagmus spontané mais variable. La majorité des chats atteints présentaient une cataracte bilatérale congénitale qui est apparue avant l'âge de 3 mois. Ce signe clinique n'était présent que dans l'espèce féline et n'a pas été retrouvé systématiquement en cas de syndrome de Chédiak-Higashi humain, ce qui laisse penser que deux gènes distincts pourraient être à l'origine de ces deux formes de la maladie.

Aucune sensibilité particulière aux infections n'a alors été mise en évidence mais une tendance aux saignements a été rapportée, contrairement à l'Homme où ce symptôme est fréquemment retrouvé. Le faible nombre de cas rapportés pourrait expliquer cette particularité du chat.

Aucun saignement spontané n'a été rapporté mais des saignements prolongés étaient présents suite à des interventions chirurgicales mineures ainsi qu'un développement fréquent d'hématomes. Par conséquent les troubles de l'hémostase n'étaient pas un signe d'appel caractéristique de la maladie et ce sont les autres signes cliniques qui pourront alerter le clinicien.

β. Etiologie

Dans les granulocytes neutrophiles du sang périphérique et de la moelle ont été observés des granules éosinophiliques, contenant des enzymes peroxydases. L'examen des poils et de la peau a révélé la présence dans les hampes pileuses de grains de mélanine éparpillés, de grande taille et de forme irrégulière et allongée. L'étude de la lignée a montré alors une transmission autosomique récessive de la maladie chez le Persan [127].

Colgan et collaborateurs ont montré en 1989, en utilisant un agrégomètre, que les plaquettes des chats homozygotes atteints du syndrome de Chédiak-Higashi étaient capables de s'agréger en présence d'ADP ou de collagène, mais aucune sécrétion plaquettaire d'ADP n'a été montrée [52]. Ces résultats suggèrent que l'allongement du temps de saignement était consécutif à une déficience des granules denses. La microscopie électronique a permis de montrer l'absence totale de granules plaquettaires denses chez les chats homozygotes ; ce déficit complet semblait être une caractéristique du syndrome chez l'animal. Chez le Chat, cette absence de granules se traduit par une diminution de la concentration plaquettaire en ADP, ATP, sérotonine et Mg^{2+} dont la libération a un rôle pro-agrégant plaquettaire. On a noté aussi une augmentation du ratio ATP/ADP, caractéristique de la maladie.

Le manque de sérotonine induit un déficit dans la synthèse d'acide arachidonique qui pourrait être à l'origine de la sensibilité des chats aux infections puisque la molécule ne joue plus son rôle chimotactique et activateur des polynucléaires neutrophiles et des macrophages.

Chez la Souris, le syndrome correspond à la couleur beige. Le gène en cause a été identifié et nommé *CHSI* (*Chédiak Higashi Syndrome 1*) ou *LYST* (*Lysosomal Trafficking Regulation*). Des mutations du gène *LYST* ont été identifiées chez l'Homme et sont responsables de la maladie humaine [166, 179].

γ. Diagnostic

La maladie n'a, pour le moment, été décrite que chez le chat Persan. Les chats homozygotes présentent un allongement du temps de saignement buccal (14,1 min ; norme = 1,4 à 2,4 min). Ce temps est aussi significativement allongé chez les chats hétérozygotes (2,6 min en moyenne) mais certaines valeurs de chats homozygotes étant dans les normes, l'utilisation de cette méthode comme dépistage de la maladie est insuffisante.

L'examen microscopique des poils permet de détecter des anomalies des grains de mélanine mais ils sont cependant parfois peu nombreux et difficiles à observer [185].

L'hémogramme montre une neutropénie et le frottis sanguin révèle des anomalies dans les granules intracytoplasmiques des leucocytes.

L'examen de certitude reste l'analyse au microscope électronique ou l'étude à l'aide d'un agrégomètre ou d'une cytométrie de flux mais ces méthodes restent du domaine de la recherche à l'heure actuelle. Le gène n'ayant toujours pas été identifié, aucun test génétique n'est disponible à l'heure actuelle.

δ. Traitement et pronostic

L'évolution de la maladie conduit inévitablement à la mort de l'animal soit suite à une infection soit une hémorragie. L'évolution terminale décrite chez l'Homme (pancytopénie et hépatomégalie) n'est pas décrite à ce jour dans la littérature.

Cowles et collaborateurs, en 1992, ont réussi à diminuer le temps de saignement par la mise en place d'une transfusion de plaquettes chez des chats atteints de syndrome de Chédiak-Higashi [56].

3. Autre anomalie des granules denses décrite [38]

En 2000, Callan et collaborateurs rapportent deux cas de thrombopathies chez deux chats domestique à poils courts [38]. Alors que le premier cas ressemblait plutôt à une anomalie de transduction du signal, le deuxième chat présentait des anomalies plaquettaires laissant penser à une maladie du *pool* de stockage.

En 2000, une chatte de 4 mois est présentée en consultation pour des saignements intermittents gingivaux, le dernier épisode ayant abouti à une anémie majeure, ainsi que pour des hémorragies sévères suite à des lésions au niveau du nez et des oreilles. Les temps de coagulation, la concentration plasmatique en facteur de von Willebrand, la morphologie et le comptage plaquettaire ont des résultats dans les normes. Toutefois le temps de saignement buccal est fortement prolongé (6,5 minutes – norme < 2,5 minutes) et les tests d'agrégation plaquettaire indiquent une réponse défectueuse en présence d'ADP, de thrombine ou de collagène. Les mesures des concentrations en nucléotides plaquettaires étaient :

- ATP : 11,49 $\mu\text{mol}/10^{11}$ plaquettes (chat normal : 8,93 +/- 1,39 $\mu\text{mol}/10^{11}$ plaquettes),
- ADP : 1,97 $\mu\text{mol}/10^{11}$ plaquettes (chat normal : 5,9 +/- 2,7 $\mu\text{mol}/10^{11}$ plaquettes),

- ATP / ADP : 5,82 (chat normal : 1,89 +/- 0,98).

Cette augmentation du ratio ATP / ADP amène à suspecter soit un déficit isolé en granules denses, soit une anomalie de type maladie du « *pool* de stockage » ou maladie du *pool* vide qui n'était décrite chez le Chat qu'en association avec le syndrome de Chédiak-Higashi.

L'apparition dès le jeune âge chez cet animal a permis de supposer une origine génétique de ce trouble mais l'absence d'étude du pedigree du chat atteint n'a pas permis de confirmer ou d'infirmer l'héritabilité de ce trouble [38].

D. HÉMATOPOÏÈSE CYCLIQUE DU COLLEY GRIS

Les colleys à la robe de couleur grise voient la quantité de leurs cellules sanguines fluctuer en fonction du temps selon un rythme cyclique. Cette particularité est attribuée à un défaut de régulation au niveau des cellules souches primitives de la moelle osseuse. Le premier cas a été décrit en 1967 et depuis cet animal est apparu comme un modèle intéressant pour la neutropénie cyclique humaine [144].

Il a été démontré que la maladie était présente dès la naissance du chien [99] et qu'elle se transmettait sur le modèle autosomique récessif [117].

1. Symptômes généraux

Di Giacomo et collaborateurs en 1983 ont étudié les signes cliniques de la maladie en fonction de l'âge chez plusieurs Colleys [61]. Pour noter la gravité des symptômes, ils ont pris en compte la quantité de neutrophiles, la température rectale, la présence de signes cliniques et la mise en place d'un traitement antibiotique. L'étude a permis de montrer que les animaux présentaient des infections pendant un quart à deux tiers de leurs cycles. Les animaux présentaient de la fièvre et environ la moitié a présenté une léthargie marquée (Tableau 4). La durée d'un cycle était d'environ 10 à 14 jours et les crises duraient de 2 à 4 jours.

Tableau 4. Fréquence des signes cliniques observés lors du cycle hématopoïétique
ayant précédé la mort chez 18 Colleys gris [99]

| Signes cliniques | Nombre d'animaux | Pourcentage |
|------------------------|------------------|-------------|
| Fièvre | 17 | 94 |
| Léthargie | 8 | 44 |
| Anorexie | 5 | 28 |
| Maladies digestives | 5 | 28 |
| Maladies respiratoires | 5 | 28 |
| Ictère | 5 | 28 |
| Déshydratation | 2 | 11 |
| Douleur | 1 | 6 |
| Conjonctivite | 1 | 6 |
| Abcès (sous-cutané) | 1 | 6 |
| Méléna | 1 | 6 |

Les autopsies réalisées ont montré des résultats variables en fonction de l'âge de l'animal. Ainsi les jeunes animaux présentaient plus particulièrement des processus infectieux aigus au niveau des poumons, du tractus digestif ou des reins, alors que les vieux animaux ont plutôt montré des signes d'inflammation chronique dans ces mêmes organes. Sur les chiens âgés de plus de 30 semaines, une amyloïdose était fréquemment retrouvée (Tableau 5).

Les neutropénies cycliques sont généralement associées à une thrombocytose et à une réticulocytose cycliques. Une monocytose marquée intervient peu après. L'étude du myélogramme de chiens atteints a montré une alternance de la prédominance des lignées érythrocytaires et myéloïdes compatibles avec les modifications constatées sur l'hémogramme. Enfin des variations cycliques se retrouvaient au niveau des taux d'érythropoïétine, de facteurs de stimulation et d'activité (GCSF : *Granulocyte Colony Stimulating Factor*). Il semblerait que ces variations soient liées à des variations au niveau des cellules souches pluripotentes puisqu'une greffe de cellules de moelle osseuse rétablit un profil hématopoïétique normal chez un chien atteint [57].

Tableau 5. Distribution des pourcentages de lésions par organes à l'autopsie par organes dans
4 groupes de Colley Gris

| Lésions | Groupes* | | | |
|---|----------|-----|-----|-----|
| | I | II | III | IV |
| Des poumons : | | | | |
| Bronchopneumonie aigüe | 57 | 0 | 0 | 0 |
| Pneumonie interstitielle aigüe | 43 | 100 | 25 | 0 |
| Pneumonie interstitielle chronique | 0 | 0 | 75 | 100 |
| Pleurite chronique | 0 | 20 | 0 | 0 |
| Calcification | 0 | 0 | 75 | 50 |
| Des reins : | | | | |
| Glomérulonéphrite mésangioproliférative | 43 | 20 | 75 | 100 |
| Pyélonéphrite aigüe/chronique | 43 | 0 | 0 | 0 |
| Néphrite interstitielle chronique | 0 | 40 | 100 | 100 |
| Néphrose | 43 | 80 | 50 | 50 |
| Calcification (tubulaire) | 43 | 20 | 50 | 0 |
| Amyloïdose | 0 | 0 | 0 | 50 |
| Du cœur : | | | | |
| Endocardite valvulaire chronique | 29 | 40 | 25 | 0 |
| Myocardite chronique | 0 | 20 | 50 | 0 |
| Nécrose / dégénérescence myocardique | 0 | 20 | 75 | 0 |
| Calcification myocardique | 0 | 20 | 75 | 0 |
| Du tractus gastro-intestinal : | | | | |
| Gastrite aigüe | 50 | 0 | 0 | 0 |
| Gastrite chronique | 0 | 0 | 25 | 0 |
| Entérite aigüe | 40 | 40 | 0 | 0 |
| Entérite chronique | 20 | 20 | 50 | 100 |
| Pancréatite | 25 | 0 | 50 | 100 |
| Calcification (stomacale) | 0 | 0 | 50 | 0 |
| Amyloïdose (intestine grêle) | 0 | 0 | 25 | 0 |
| Du foie : | | | | |
| Cholangite | 29 | 0 | 0 | 0 |
| Dégénérescence graisseuse | 71 | 40 | 100 | 50 |
| Nécrose hépatique | 29 | 0 | 0 | 100 |
| Hyperplasie des cellules de Kupffer | 0 | 0 | 50 | 100 |
| Amyloïdose | 0 | 0 | 50 | 100 |
| De la rate : | | | | |
| Splénite aigüe / chronique | 66 | 0 | 0 | 0 |
| Déplétion lymphoïde | 83 | 100 | 100 | 100 |
| Histiocytose | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Amyloïdose | 17 | 40 | 100 | 100 |
| Des nœuds lymphatiques : | | | | |
| Déplétion lymphoïde | 100 | 100 | 25 | 0 |
| Histiocytose | 100 | 100 | 100 | 100 |

* Groupe I = chiens de 10 à 16 semaines / Groupe II = chiens de 17 à 21 semaines / Groupe III = chiens de 30 à 35 semaines / Groupe IV = chiens de plus de 52 semaines

2. Modifications plaquettaires

Comme cité précédemment des cycles de thrombocytose sont présents chez les chiens atteints. Cependant on retrouve également des défauts d'adhésivité et de rétraction du clou plaquettaire, indépendants des neutropénies cycliques, mais corrigés par une greffe de cellules de moelle osseuse. On note aussi un défaut d'agrégation plaquettaire en présence de collagène associé à un défaut de stockage de la sérotonine dans les granules denses.

Lothrop et collaborateurs, en 1991, ont étudié l'agrégation plaquettaire, la capacité de stockage des granules et la capacité de phosphorylation des protéines [142]. L'agrégation plaquettaire de chiens atteints et de chiens normaux a été mesurée en présence de doses croissantes de 8 agonistes : collagène, thrombine, PAF, acide arachidonique et épinéphrine, calcium, ADP, phospholipase C et 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA). Un défaut d'agrégation a été noté pour le collagène, le PAF, le TPA et la thrombine mais était normal pour les autres molécules. Le stockage de la sérotonine dans les granules denses est apparu fortement diminué chez les individus homozygotes, mais normal chez les hétérozygotes. De plus, chez les chiens hétérozygotes, l'agrégation était intermédiaire en présence de collagène ou de PAF. Alors que la thrombine stimule la phosphorylation des protéines de 20 kDa et de 40 kDa (cible de la protéine kinase C, le collagène n'entraîne qu'une phosphorylation des protéines de 20 kDa. Ces résultats suggèrent une atteinte de type « δ -storage pool defect » mais le fait que les chiens hétérozygotes pour l'hématopoïèse cyclique aient des quantités normales de sérotonine dans les granules denses et que l'ajout de sérotonine ne modifie pas l'agrégation ne sont pas expliqués par cette maladie. A ce jour, la relation entre ces processus et les cycles hématopoïétiques est encore inconnue.

3. Génétique

L'étude des pedigrees des colleys atteints de la maladie a permis de confirmer une transmission autosomique récessive de l'hématopoïèse cyclique.

Chez l'Homme, la maladie est due à des mutations du gène *ELA2* (*élastase 2*) qui code pour l'élastase des neutrophiles et contrairement au Chien, elle se transmet sur le mode autosomique dominant [105].

En 2003, Benson et collaborateurs ont montré que les Colleys atteints de neutropénie cyclique ne portaient pas de mutation dans le gène *ELA2* mais dans le gène codant pour la sous-unité β du gène *AP3* (*Adaptation Protein Complex 3*). Ce gène est impliqué dans le transport de protéines de l'appareil de Golgi vers les lysosomes [8].

Ainsi des tests génétiques sont aujourd'hui disponibles dans plusieurs laboratoires (Healthgene, Laboklin, Progenus et VetGen) (Annexe 2).

4. Traitement

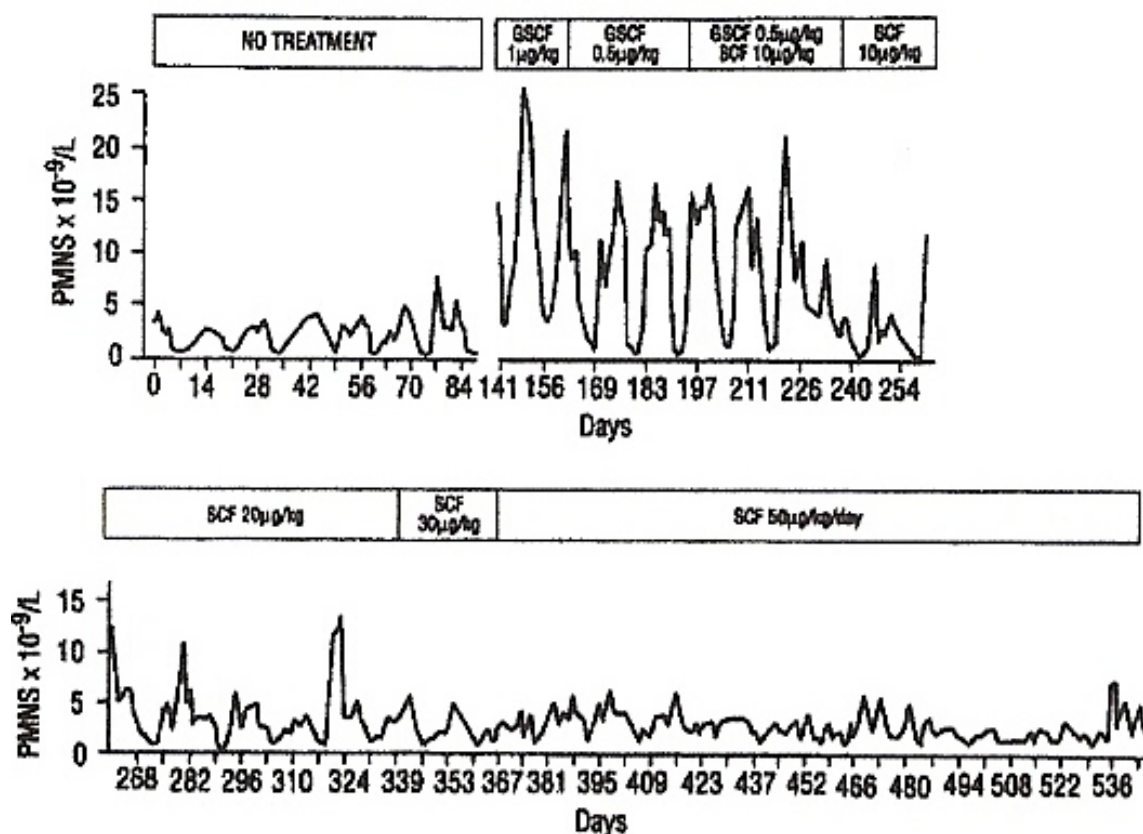
La mise en place d'un traitement antibiotique lors d'épisode de neutropénie est importante car elle permet de limiter toute infection éventuelle dont les conséquences amèneraient à la mort de l'animal. Le traitement à long terme qui paraît le plus efficace reste la greffe de cellules de moelle osseuse qui restaure une activité normale de l'hématopoïèse.

Enfin des traitements à base d'entotoxines ou de lithium sont rapportés comme ayant une efficacité contre cette maladie [57].

Dale et collaborateurs, en 1995, ont examiné l'intérêt du facteur de croissance des cellules souches (*SCF* : *Stem Cell Factor*), un puissant stimulant de l'hématopoïèse [57]. En effet chez des souris mutantes pour le gène codant le *SCF*, on a observé : un pelage gris, une anémie microcytaire, une déficience en mastocytes et une stérilité [57]. D'autre part les souris mutantes pour le récepteur du *SCF* présentaient des zones focales hypopigmentées mais une hématopoïèse normale. Le traitement à base de *SCF* recombinant a induit une neutrophilie qu'à partir d'une dose de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{jour}$ mais des doses quotidiennes de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ stoppaient les périodes de neutropénie. Un traitement combiné de *SCF* recombinant et de G-*SCF* recombinant canin (facteur de stimulation des granulocytes : G-CSF = *Granulocyte-Colony Stimulating Factor*) à des doses respectives de 20 à 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{jour}$ et de 0,5 à 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{jour}$ a montré une synergie des deux molécules. Un traitement à long terme était généralement bien toléré pour des doses allant de 10 à 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{jour}$ et paraissait être une bonne thérapie pour le traitement chronique de l'hématopoïèse cyclique du Colley. La figure 27 montre la disparition de la cyclicité de l'hématopoïèse avec un traitement au long cours.

Figure 27. Les effets du traitement d'un Colley gris atteint d'hématopoïèse cyclique

par le G-SCF et le SCF [62]



Légende : ces graphiques permettent d'apprécier la quantité de leucocytes (PMNS = *PolyMorphoNuclear leucocytes*) en fonction du temps et du traitement apporté :

- « *No treatment* » = aucun traitement,
- GSCF = *Granulocyte-Colony Stimulating Factor*,
- SCF = *Stem Cell Factor*.

E. ANOMALIE D'ACTIVITÉ PROCOAGULANTE PLAQUETTAIRE

Cette anomalie d'activité procoagulante plaquettaire a été décrite pour la première fois chez le chien en 2002 par Brooks et collaborateurs [24]. Cette maladie possède de nombreuses caractéristiques présentes dans le syndrome de Scott, un défaut héréditaire rare d'activité procoagulante plaquettaire décrit en médecine humaine et fondé sur un déficit de mouvement de la phosphatidylsérine dans la

membrane thrombocytaire [24]. En effet, lors de son activation, la membrane des plaquettes subit de nombreux changements de conformation afin de pouvoir interagir avec divers facteurs de coagulation pour former des complexes tels que la ténase (IXa-VIIIa-) ou la prothrombinase (Va-Xa). Or ces facteurs ne sont capables de se fixer sur la membrane que si la charge locale est négative et c'est l'exposition de la phosphatidylsérine ainsi que sa libération dans des microvésicules qui permet ce changement de charge [24].

1. Description des cas

L'étude a porté sur 5 Bergers allemands adultes de la même lignée (3 femelles et 2 mâles) dont l'âge variait de 1,5 à 3 ans. Ces chiens présentaient des symptômes hémorragiques tels que des épistaxis, des hyphémas ou des saignements importants évocateurs de troubles de l'hémostase primaire lors de chirurgie mineure (développement d'hémoabdomen chez deux femelles suite à une ovariohystérectomie et développement d'un hématome scrotal suite à la castration chez un des mâles). Un mâle a également développé un hématome suite à une injection intramusculaire. Aucune autre anomalie en dehors des troubles de l'hémostase n'a été retrouvée lors de l'examen clinique.

Ces épisodes hémorragiques répondaient favorablement aux transfusions de sang frais.

Le fait que les mâles et les femelles soient touchés de manière équivalente suggère un mode de transmission autosomique.

Sur les différents chiens, le temps de saignement, l'hémogramme et la morphologie plaquettaire, les temps de coagulation, la rétraction du clou plaquettaire, la concentration en vWF:Ag et la distribution des multimères du facteur de von Willebrand avaient des résultats dans les normes. L'agrégation et la sécrétion plaquettaire ne présentaient aucune anomalie lors de l'étude de leurs réponses aux agonistes habituels. Ainsi aucune des maladies précédemment connues ne correspondait à ce cas.

2. Etude de l'activité procoagulante plaquettaire

a. Test de disponibilité du *Platelet Factor 3* (PF3)

Une suspension de plaquettes lavées appartenant à des chiens sains et à des chiens atteints a été mise en présence de kaolin puis le temps de coagulation a été mesuré. Il est apparu deux fois plus long chez les individus malades que chez les sains. La combinaison d'un plasma sain à des plaquettes anormales n'a pas permis d'obtenir un clou plaquettaire normal ce qui indiquait que le problème venait d'un défaut intrinsèque aux plaquettes [24].

b. Mesure de l'activité prothrombinase plaquettaire

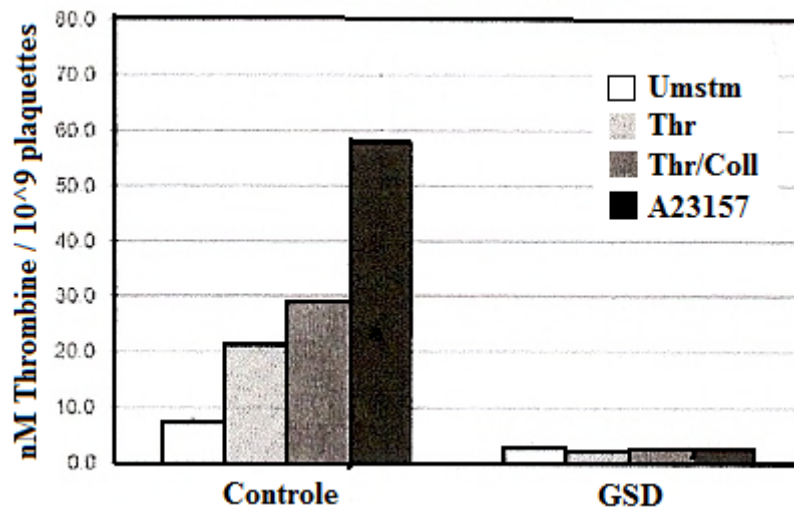
Une suspension de plaquettes lavées a été mise en présence de facteur X bovin et de prothrombine bovine. Des prélèvements réguliers ont permis de mesurer la quantité de thrombine générée grâce à son activité sur un substrat (mesure par variation de densité optique du mélange).

La quantité de thrombine générée chez les chiens normaux était maximale avec les ionophores de calcium, correcte avec la thrombine associée ou non au collagène et faible avec le diméthylsulfoxyde. Quant aux chiens atteints, très peu de thrombine a été synthétisée, quelque soit l'agoniste utilisé (Figure 28) [24].

La même technique a permis de mesurer l'activité prothrombinase des globules rouges sanguins où aucune différence significative n'a été notée entre chiens sains et malades.

Le manque d'activité prothrombinase des plaquettes n'a pas pu être attribué à une absence de phosphatidylsérine puisque les membranes de chiens atteints et de chiens normaux présentaient des quantités de phosphatidylsérine identiques [24].

Figure 28. Activité prothrombinase plaquettaire en réponse à un traitement agoniste [24]



Légende : l'activité prothrombinase mesurée en nmoles de thrombine / 10⁹ plaquettes est mesurée chez un chien sain (« contrôle ») et un chien atteint (GSD) en fonction de leur réponse à divers traitements agonistes : diméthylsulfoxyde (UnStm), thrombine (Thr), thrombine associée au collagène (Thr/Coll) et calcium (A23157).

c. Test de consommation de la prothrombine ou mesure du ratio prothrombine sérique

Des échantillons de sérum ont été mis en présence de fibrinogène bovin et les quantités initiales de prothrombine et après ajout de thromboplastine et de calcium ont été mesurées afin de déterminer le ratio prothrombine sérique : Ratio = (Prothrombine finale / Prothrombine initiale)*100.

Plus il est élevé et moins la prothrombine est consommée. Ainsi le ratio pour un chien normal est inférieur à 60 % au bout d'une heure, contre 90 % pour un chien atteint d'une anomalie procoagulante plaquettaire.

Ce test a été utilisé sur les portées obtenues par croisement d'un mâle atteint et d'une femelle saine afin de déterminer le mode de transmission de la maladie. Sur les 3 portées obtenues, seuls 3 chiots sur 22 ont été détectés comme porteur. On a supposé ainsi un mode de transmission autosomique récessif de l'anomalie [24].

d. Cytométrie de flux

Alors que la quantité de phosphatidylsérine apparaissait normale dans les membranes plaquettaires de chiens atteints, la cytométrie de flux a révélé une diminution de l'exposition de la molécule ainsi qu'un défaut de formation des vésicules en réponse aux agonistes (ionophores de calcium, thrombine et collagène).

Les chiens atteints de cette anomalie procoagulante plaquettaire apparaissaient donc comme un modèle pour l'étude du syndrome de Scott, notamment pour déterminer l'origine de ces troubles.

Les tableaux 6 et 7 résument les caractéristiques cliniques, lésionnelles et génétiques des thrombopathies décrites précédemment.

Tableau 6. Diagnostic des thrombopathies constitutionnelles héréditaires (1ère partie).

| Maladie | | Rétraction du clou plaquettaire | Adhésion | Agrégation | Agrégation + agonistes | Sécrétion | Mode de transmission | Gène en cause ou suspecté (?) | Références |
|--|--------------------------------|---------------------------------|----------|------------------------------------|--------------------------------|-------------------|----------------------|---|----------------------|
| Anomalies des glycoprotéines membranaires | Thrombopathie de Glanzmann | Diminuée | Diminuée | Absente à diminuée | Absente à diminuée | | Autosomique récessif | <i>ITGA2B</i> <i>ITGB3</i> | [9, 15, 172] |
| | Syndrome de Bernard Soulier | Diminuée | Diminuée | Absente en présence de ristocétine | | | Autosomique récessif | <i>GPIba</i> , <i>GPIbβ</i> , <i>GPIX</i> | [133, 141] |
| Anomalies du signal de transduction | Thrombopathie du Basset Hound | Normale | Diminuée | Absente à diminuée | Absente à diminuée | Diminuée | Autosomique récessif | <i>CalDAG-GEFI</i> | [10] |
| | Thrombopathie du Spitz | Normale | Diminuée | Absente à diminuée | Absente à diminuée | Diminuée | Autosomique récessif | | |
| Absence de granules denses plaquettaires | Maladie du pool vide du Cocker | Normale | | Diminuée | Diminuée pour ADP et collagène | Diminuée pour ADP | Autosomique récessif | <i>Rab27</i> , <i>Rab38</i> , <i>ABCC4</i> (?) | [36, 220] |
| | Syndrome de Chédiak-Higashi | | | Diminuée | Normale pour ADP et collagène | Absente | Autosomique récessif | <i>LYST</i> (?) | [127, 158, 166, 179] |
| Hématopoïèse cyclique du Colley gris | | Diminuée | | Diminuée | Diminuée sauf pour ADP | | Autosomique récessif | <i>AP3</i> | [57, 61, 142, 8] |
| Anomalie d'activité procoagulante plaquettaire | | Normale | | Normale | | Normale | Autosomique récessif | | [24] |

Tableau 7. Diagnostic des thrombopathies constitutionnelles héréditaires (2ème partie).

| Maladie | | Ultrastructure | Contenu des granules | Glycoprotéines membranaires | Métabolisme | Activité procoagulante plaquettaire |
|--|--------------------------------|---------------------|-----------------------------|--------------------------------|---|--|
| Anomalies des glycoprotéines membranaires | Thrombasthénie de Glanzmann | Normale | Diminution du fibrinogène | GP IIb/IIIa absents à diminués | | Normale |
| | Syndrome de Bernard Soulier | Normale | Normal | GP Ib-V-IX absents à diminués | | |
| Anomalies du signal de transduction | Thrombopathie du Basset Hound | Normale | Normal | Normal | Anomalie d'activité phosphodiesterase | |
| | Thrombopathie du Spitz | Normale | | Normaux | Défaut précis non encore identifié | |
| Anomalies des granules denses plaquettaires | Maladie du pool vide du Cocker | Normale | Diminution de l'ADP | Normaux | | |
| | Syndrome de Chédiak-Higashi | Absence de granules | Absent | Normaux | | Diminuée (déficit en sérotonine et Mg^{2+}) |
| Hématopoïèse cyclique du Colley gris | | | Diminution de la sérotonine | Normaux | Défaut combiné de stockage de la sérotonine et de phosphorylation des protéines | |
| Anomalie d'activité procoagulante plaquettaire | | | Normal | Normaux | | Diminuée |