

**MALADIE DE WILLEBRAND (VWD)**Référence : **ANPGM_082**Numéro de version : **v2**

Page : 1/6

Date de Création : 18/11/2009

Date de révision : 01/12/2015

	Nom	Hôpital	Date
Rédacteur(s)	<i>Dr Pierre BOISSEAU Pr Agnès VEYRADIER</i>		18/11/2009
Vérificateur(s)	Sous-groupe Genostase		9/12/2010
Filière	MHEMO		
Approbateur(s)	<u>Pour le CA de l'ANPGM :</u>		
	Benoit ARVEILER	CHU Bordeaux	17/11/2016
	Cécile ACQUAVIVA	CHU Lyon	
	Anne-Sophie LEBRE	CHU Reims	
	Pascale SAUGIER-VEBER	CHU Rouen	

MALADIE DE WILLEBRAND (VWD)Référence : **ANPGM_082**Numéro de version : **1.1**

Page : 2/6

1. Présentation clinique

La maladie de Willebrand (VWD) est la plus fréquente des anomalies constitutionnelles de l'hémostase avec une prévalence estimée entre 1 et 5 pour 10000 naissances. La maladie se traduit par des manifestations hémorragiques de gravité variable, spontanées ou secondaires à une procédure invasive, apparaissant d'autant plus tôt dans la vie que le déficit est profond. Elle est surtout caractérisée par des hémorragies cutanéomuqueuses (épistaxis, ménorragies...), mais des hématomes et hémarthroses peuvent survenir dans les formes les plus graves. Cependant, le diagnostic peut être difficile en raison du large spectre des manifestations cliniques, de la présentation biologique et d'une pénétrance variable.

On distingue 3 grands types de VWD en fonction du type de déficit en facteur Willebrand (VWF) :

- Le type 1 : déficit quantitatif partiel en VWF
- Le type 3 : déficit complet en VWF
- Le type 2 : déficit qualitatif en VWF

Le type 2 est divisé en 4 groupes de variants : 2A, 2B, 2M, 2N qui ont une fréquence relative identique. Excepté le type 2N, les autres variants sont difficiles à caractériser sur les seuls résultats de tests phénotypiques ; pourtant leur prise en charge thérapeutique peut être différente et leur risque hémorragique peut être variable justifiant leur reconnaissance grâce à la mise en évidence de l'anomalie moléculaire en cause. En particulier le variant 2B est extrêmement difficile à distinguer de la pseudo-maladie de Willebrand dont les implications thérapeutiques sont opposées. Ainsi, le diagnostic formel de ce variant impose l'analyse moléculaire.

Concernant les patients de type 1, la grande difficulté diagnostique réside dans la distinction entre une forme très modérée et une population normale notamment de groupe sanguin O. Il faut cependant distinguer un déficit modéré représentant un faible facteur de risque de saignement et une véritable maladie. Il est licite aujourd'hui de retenir pour l'analyse moléculaire uniquement les patients ayant une symptomatologie hémorragique personnelle et familiale et un taux de VWF:Ag inférieur ou égal à 30 UI/dl. En effet, les études européenne et canadienne récemment menées ont montré que chez 30% des patients avec une apparente VWD de type 1, aucune anomalie moléculaire n'était retrouvée au niveau du gène de VWF ; chez ces patients, les manifestations hémorragiques sont discrètes voire absentes et les taux de VWF peu abaissés.

Quant au type 3, qui est la forme la plus sévère, il est très peu fréquent (~5% de tous les types) et peut donner lieu, après discussion en consultation multidisciplinaire avec les parents, à un diagnostic prénatal.

2. Quelques points clés

* Modes de transmission :

- la VWD de type 1 : transmission dominante
- la VWD de type 3 : transmission récessive
- la VWD de type 2 : transmission dominante (2A(IIA), 2A(IIE), 2B et 2M) ou récessive (2A(IIC), 2A(IID) et 2N).

* La maladie de Willebrand (VWD) : OMIM193400 et 277480

* Le facteur Willebrand (VWF) est synthétisé à partir du gène *VWF* (OMIM613160) (NM_000552.4), (HGNC:12726) situé sur le chromosome 12 (12p13.31), de 180 kb et 52 exons.

* A noter, la présence d'un pseudogène (*VWFP1*) (HGNC:12727) homologue à 97% de l'exon 23 à l'exon 34 (introns compris).

3. Pathologie moléculaire

MALADIE DE WILLEBRAND (VWD)Référence : **ANPGM_082**Numéro de version : **v2**

Page : 3/6

Le VWF est synthétisé par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. Il a 2 grandes fonctions : 1) il permet l'adhésion des plaquettes à la paroi vasculaire lésée et facilite l'agrégation des plaquettes entre elles à taux de cisaillement élevé du flux sanguin ; 2) il se lie au FVIII dans la circulation et le protège ainsi d'une dégradation enzymatique.

Les anomalies moléculaires du gène du VWF sont très nombreuses et sont décrites selon la nomenclature internationale HGVS par rapport au clone de référence NM_00552.4.

Les anomalies moléculaires responsables du type 1 de VWD sont encore mal connues et sont le plus souvent des mutations faux-sens qui peuvent être situées sur toute la longueur du gène.

A l'exception du type 2N où 90 % des variations délétères sont localisées dans l'exon 20, les variants de séquence responsables des types 2A, 2B, 2M sont dans près de 90 % localisées dans l'exon 28.

Les anomalies moléculaires responsables du type 3 se retrouvent sur les 52 exons du gène.

Le pseudogène (*VWFPI*) n'est pas exprimé mais peut être à l'origine de conversions géniques qui peuvent entraîner l'apparition de variants délétère sur le gène.

4. Corrélations génotype-phénotype

Le diagnostic du type de VWD reste difficile, nécessitant souvent le recours à l'analyse moléculaire. La grande taille du gène est un handicap. La stratégie d'analyse dépend étroitement du phénotype. De fait, pour tous les patients étudiés, les prescripteurs utilisent une fiche d'inclusion qu'ils transmettent au Centre Référence de la Maladie de Willebrand (CRMW) et qui comporte les renseignements cliniques et biologiques nécessaires à l'évaluation de la pathologie du patient (voir annexe 1). L'acceptation du dossier par l'expert du CRMW est un préalable à l'analyse moléculaire. Une fiche de transmission est ainsi fournie au laboratoire de génétique pour orienter l'analyse moléculaire. Le diagnostic définitif du type de VWD est rendu grâce à une confrontation phénotype-génotype réalisée dans le cadre d'un avis d'experts pluridisciplinaires du CRMW.

5. Méthodes de diagnostic moléculaire

Les techniques utilisées pour le diagnostic de génétique moléculaire des cas index dépendent de l'orientation donnée par l'expert sur la fiche de transmission (voir paragraphe précédent).

Du fait de la fréquence élevée des variations délétères dans l'exon 28 (variations que l'on retrouve aussi dans tous les types de maladie de Willebrand), l'étude commence systématiquement par le **séquençage direct** de cet exon. Puis, pour les cas index qui le nécessitent, l'exon 26 est séquencé seul à cause de la faible qualité des résultats obtenus par séquençage haut débit dû à la présence du pseudogène qui empêche une bonne attribution des séquences obtenues.

Si aucun variant délétère n'a été retrouvé, le **séquençage haut débit** est mis en œuvre sur les 50 exons restants. La confirmation des variants de séquence retrouvés et rendus est faite systématiquement par séquençage direct.

La **recherche de grands réarrangements est aussi confirmée par MLPA**.

Des **études du transcrit ARNm ou par minigène** peuvent être proposées pour tout variant de séquence pour lequel on pourrait avoir une suspicion sur un éventuel effet sur l'épissage.

La couverture de l'ensemble de ces techniques appliquées à la cohorte de patients du CRMW a permis de conclure plus de 90% des dossiers patients avec une étude phénotype/génotype corrélée.

La contrainte principale reste le pseudogène qui oblige à un choix précis des amorces pour les exons communs avec le gène (exons 23 à 34) du fait de son homologie à 97% et demande une interprétation avisée pour ne pas confondre une conversion génique avec une amplification

MALADIE DE WILLEBRAND (VWD)

Référence : ANPGM_082

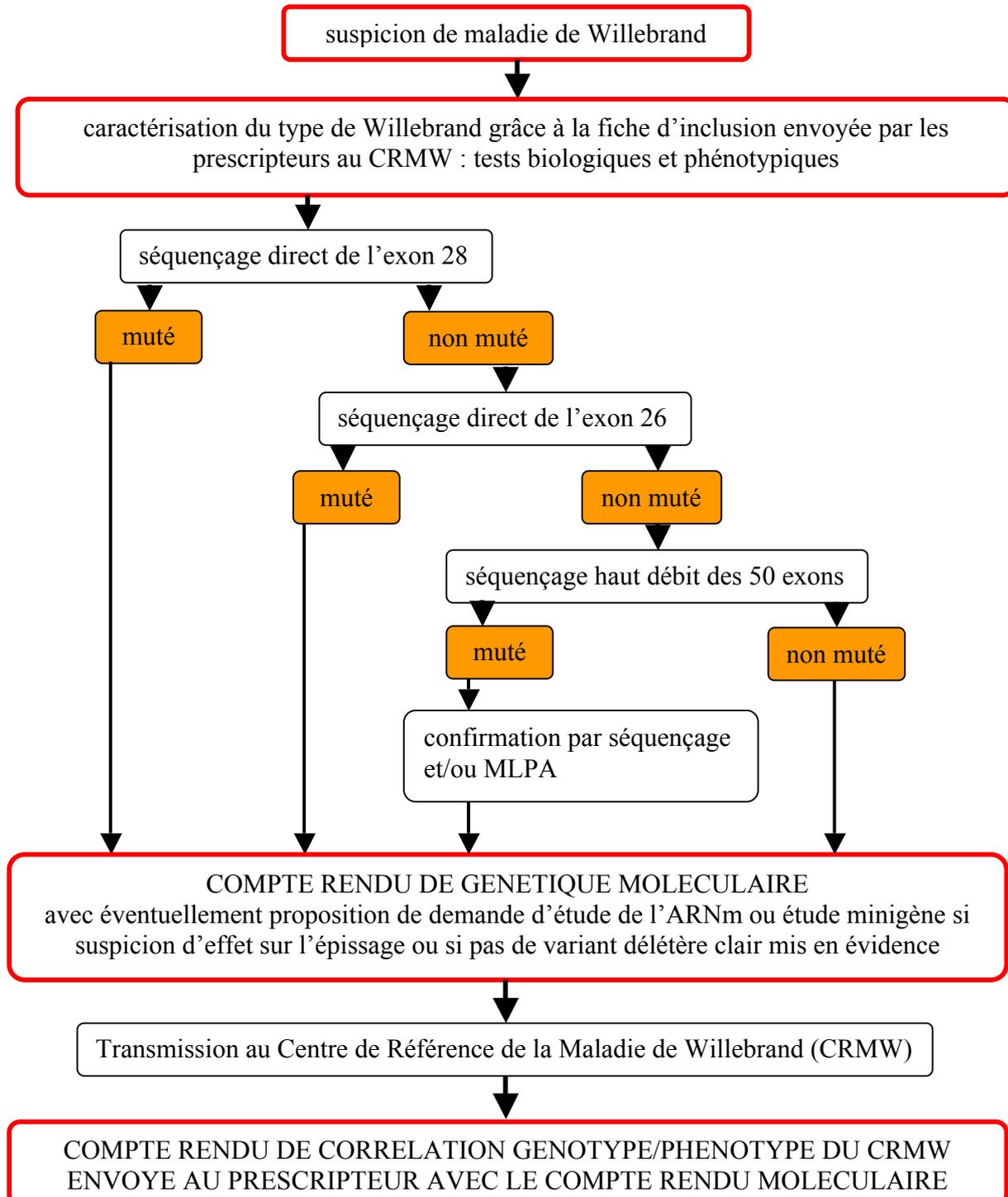
Numéro de version : 1.1

Page : 4/6

aspécifique ou une mauvaise attribution des logiciels d'analyse des données brutes issues du séquençage haut débit.

6. Arbres décisionnels pour la prise en charge en diagnostic

6.1. pour les cas index



MALADIE DE WILLEBRAND (VWD)Référence : **ANPGM_082**Numéro de version : **v2**

Page : 5/6

6.2 pour les apparentés

Seul(s) le(s) exon(s) retrouvé(s) muté(s) chez le cas index sont séquencés chez les apparentés.

Cotation : N353 BHN720

6.3 pour le diagnostic prénatal :

Le diagnostic prénatal de maladie de Willebrand n'est justifié que sur certains cas de forme les plus sévère de type 3 après discussion avec le couple en consultation multidisciplinaire et de conseil génétique. Il s'appuie sur les recommandations de l'ANPGM.

Les études moléculaires préliminaires chez le cas index et ses parents permettent d'identifier les mutations responsables de la pathologie et de confirmer leur ségrégation afin de réaliser le diagnostic prénatal en toute sécurité. Si ces études préalables n'ont pas été réalisées, les délais du diagnostic prénatal seront beaucoup plus long. Cette étude est complétée et confirmée par une analyse indirecte à l'aide de 6 marqueurs génétiques polymorphes intragéniques.

Le diagnostic prénatal peut se faire préférentiellement et le plus précocement possible dans la grossesse sur un prélèvement de villosités choriales ou plus tardivement dans la grossesse sur prélèvement de liquide amniotique.

7. Cotations

Pour un cas index : N350

Pour un apparenté : N353

Pour un diagnostic prénatal : N353

Si MLPA : N318

Si étude ARNm : N315

Si étude mini gène : N314

8. Références**8.1 Guides des bonnes pratiques :**

Keeney, Bowen, Cumming, Enayat, Goodeve and Hill
The molecular analysis of von Willebrand disease: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors Organisation.
Haemophilia (2008),14, 1099–1111

Laffan, Lester, O'Donnell, Will, Campbell Tait, Goodeve, Millar and Keeling
The diagnosis and management of von Willebrand disease: a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organization guideline approved by the British Committee for Standards in Haematology
British Journal of Haematology Volume 167, Issue 4

8.2 Recommandations nationales :

Veyradier, Goudemand, Fressinaud, Caron, Boisseau
Recommandations du Centre National de Référence de la Maladie de Willebrand – Diagnostic biologique de la maladie de Willebrand.

MALADIE DE WILLEBRAND (VWD)Référence : **ANPGM_082**Numéro de version : **1.1**

Page : 6/6

Numéro spécial d'Hématologie, mars 2014, Volume 20, supplément 2

9. Annexes**9.1 Documents d'inclusion des patients du CRMW****9.2 Liste des laboratoires et de leur activité respective**

Laboratoires	Types de maladie de Willebrand recherchés
Institut d'Hématologie-Transfusion (CHU Lille)	2N (exons 18 à 27)
Laboratoire d'Hémostase (CHU Lyon)	2B (exon 28)
Laboratoire de Génétique Moléculaire (CHU Nantes)	tous les types (52 exons)