

ANALYSE HISTOPATHOLOGIQUE DU THROMBUS INTRACRÂNIEN : FOCUS SUR LES LEUCOCYTES

Cyril Dargazanli
Pr Vincent Costalat
Dr Valérie Rigau



M2 « Vaisseaux-Hémostase »

Contexte

- Infarctus cérébral = **problème majeur de santé publique**
 - 3ème cause de mortalité dans le monde
 - morbidité : 1/3 des patients hospitalisés sévèrement dépendants à 4 semaines
- Pathologie **hétérogène**: >150 causes identifiées. Origine thromboembolique ++
 - pathologie des grosses artères (athérosclérose; dissection artérielle)
 - origine cardiaque (FA++)
- Entre **25 et 39% restent de cause inconnue**
 - caractérisation de l'origine cruciale pour optimiser la prise en charge thérapeutique (stratégies de prévention secondaire ++)
- **Thrombi intracrâniens non accessibles jusqu'à récemment** : peu d'études histologiques conduites

Objectifs

- Objectif général : **meilleure connaissance du thrombus intracrânien**
 1. Composition morphologique (prédominance en hématies ou en fibrine)
 2. Taille
- Objectif spécifique : **étude immunohistochimique des leucocytes au sein du thrombus intracrânien**
- Hypothèse de travail : variation du **contenu leucocytaire du thrombus selon étiologie** de l'infarctus ?
- Pertinence clinique :
 1. proportion importante d'infarctus cérébral reste de **cause indéterminée ++**
 2. influence de la composition du thrombus sur l'**efficacité de la fibrinolyse IV**
 3. influence potentielle de la composition du thrombus sur la **procédure endovasculaire**

Matériels et méthodes (1)

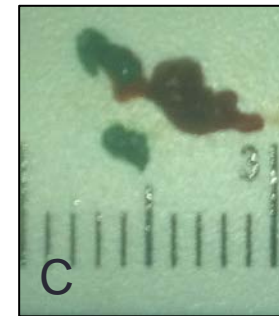
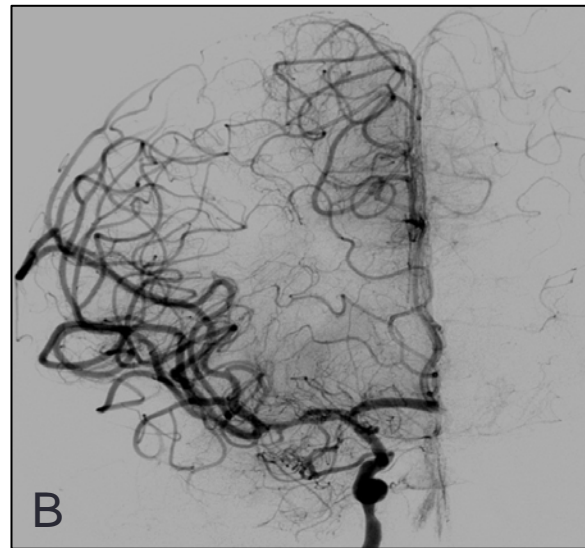
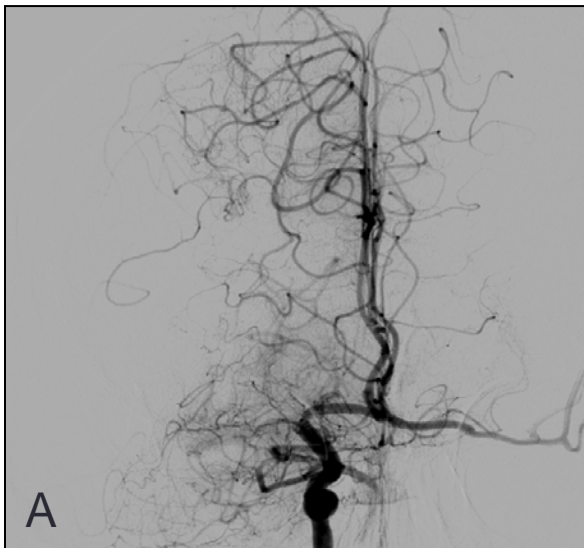
Design de l'étude

- Etude **prospective, monocentrique**
- Inclusions entre le 01/01/2014 et le 31/08/2014
- Critères d'inclusion : **éligibilité à un traitement endovasculaire mécanique**
- Fibrinolyse intraveineuse +/- conformément aux recommandations
- **Bilan étiologique exhaustif** définissant cause de l'infarctus

Matériels et méthodes (2)

Préparation du thrombus en salle d'artériographie

- Extraction du thrombus du dispositif de thrombectomie visant à maintenir son **orientation**, pôle proximal marqué en vert par de la pâte à tatouer
- Dépôt du prélèvement dans du sérum physiologique

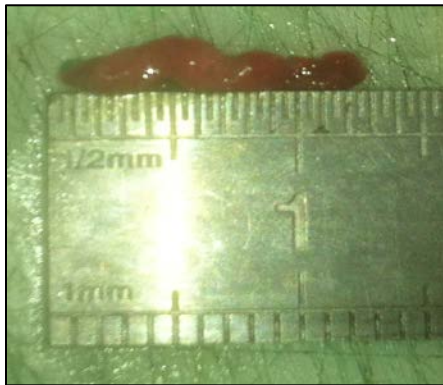


A, B : occlusion du T carotidien droit avant et après thrombectomie
C: orientation du thrombus

Matériels et méthodes (3)

Préparation du thrombus au laboratoire d'anatomopathologie

- Histologie standard = coloration H.E.



- Immunohistochimie

- **anti-CD3** : antigène « pan-T »
- **anti-CD20** : LB non activés et activés
- **anti-CD68** : granules cytoplasmiques +/- membranes des macrophages



Matériels et méthodes (4)

Critères de jugement

- **CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL :**

Contenu leucocytaire du thrombus :
différences selon étiologie du thrombus ?



**Biomarqueur
étiologique
potentiel ?**

- **CRITERES DE JUGEMENT SECONDAIRES**

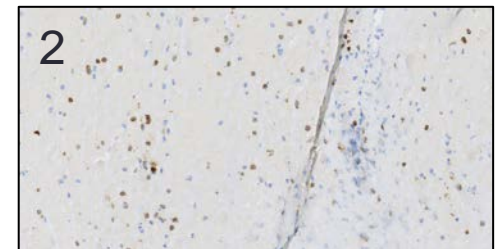
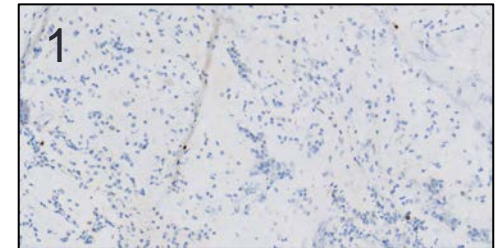
1. **composition morphologique** du thrombus : prédominance en hématies ou en fibrine
2. **taille du thrombus** en fonction du site d'occlusion

Matériels et méthodes (4)

Mesure des critères de jugement

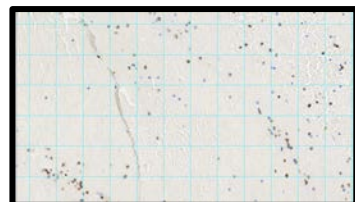
CRITERES PRINCIPAUX :

- **Numérisation** des lames d'IHC
- Choix de **2 zones** sur 2 coupes différentes à grossissement constant x200 (zone la + faiblement (1) et la + fortement (2) marquée)
- Décompte des cellules :
 - CD3 et CD20 : **quantitatif**, comptage manuel (logiciel ImageJ64 Cell Counter)
 - CD68 : **échelle semi-quantitative** :
 - Densité 1 (a): <5 cellules marquées par case sur >50% du nombre total de cases.
 - Densité 2 (b): entre 5 et 15 cellules marquées par case sur >50% du nombre total de cases.
 - Densité 3 (c): >15 cellules marquées par case sur >50% du nombre total de cases.

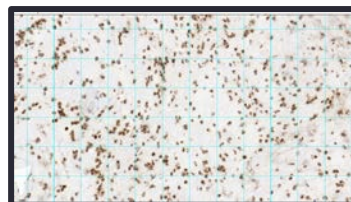


CRITÈRES SECONDAIRES :

- Taille : L et I
- Composition morphologique du thrombus : prédominance en hématies, en fibrine ou composition mixte (analyse qualitative visuelle réalisée par 2 lecteurs)



a



b



c

Résultats (1)

Etude descriptive

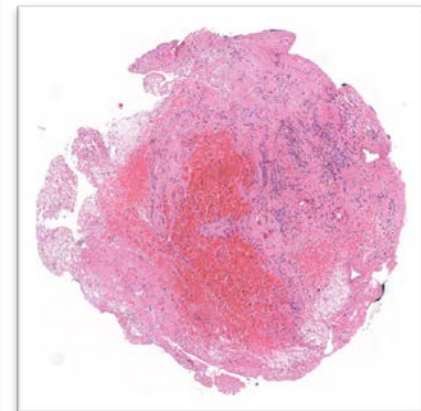
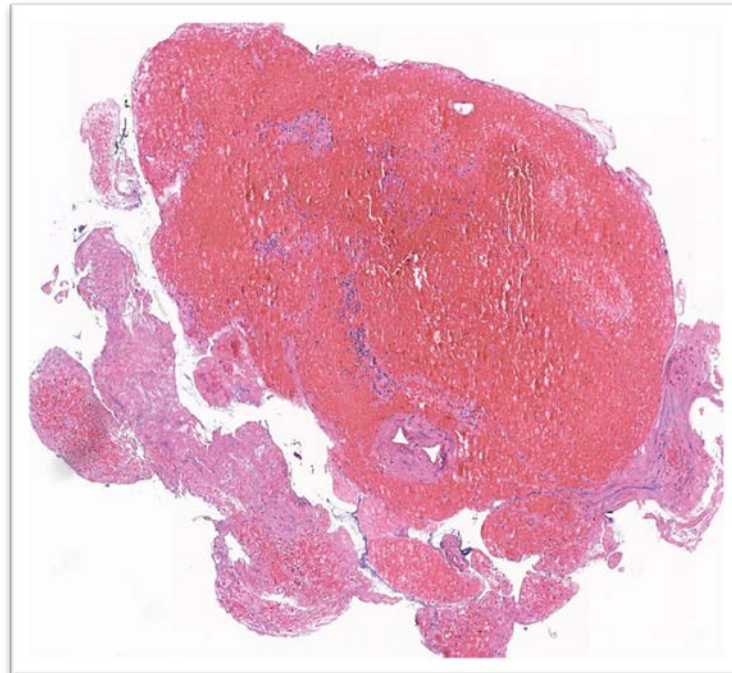
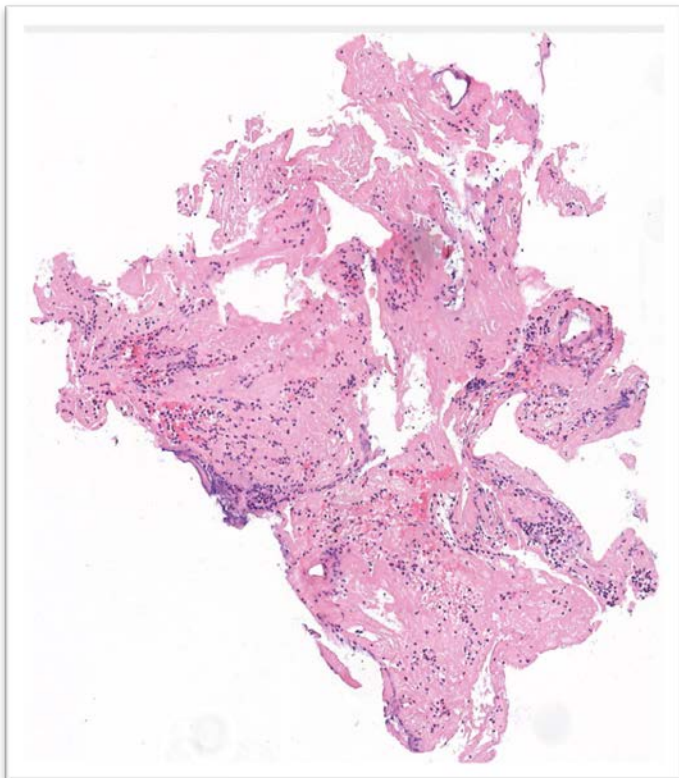
- 69 procédures réalisées
- **54 patients** inclus
- 138 lames analysées en coloration H.E

Age en années, moyenne (\pm ET)	64 \pm 16
Sexe (masculin), n (%)	34 (63)
Etiologie de l'infarctus cérébral, n (%)	
Cardioembolique	25 (46,3)
Athérombose	10 (18,5)
Inconnue	6 (11,1)
Autre	4 (7,4)
Thrombophilie	3 (5,6)
Indéterminée	3 (5,6)
Dissection	2 (3,7)
Sténose intracrânienne	1 (1,9)
NIHSS à l'entrée, médiane (extrêmes)	18 (8-26)
Fibrinolyse intraveineuse (rtPA), n (%)	31 (57)
Niveau d'occlusion, n (%)	
Artère cérébrale moyenne	33 (61)
Occlusion en tandem	9 (17)
T carotidien	6 (11)
Artère basilaire	5 (9)
Carotide interne cervicale	1 (2)
Répartition des prélèvements	
Orientés, n (%)	26(48%)
Proximal	9
Central	9
Distal	8
Non orientés	28 (52%)

Résultats (2)

Etude comparative, morphologie

- Groupe cardioembolique
 - moins de thrombi prédominants en hématies ($p=0,02$)
 - plus de thrombi mixtes ($p=0,02$)



Résultats (3)

Etude comparative, taille

	Longueur maximale (mm)	Longueur moyenne \pm ET (mm)	Largeur maximale (mm)	Largeur moyenne \pm ET (mm)
Ensemble des thrombi	53	14 \pm 8,5	8	3 \pm 1,4
Artère cérébrale moyenne	20	11,4 \pm 4,8	3	2,5 \pm 0,8
Tandem	35	16,5 \pm 9,5	8	4,1 \pm 2,5
T carotidien	35	17 \pm 10,5	5	4,3 \pm 0,9
Artère basilaire	53	24,4 \pm 16,4	5	3 \pm 1,6

	ARTÈRE CÉRÉBRALE MOYENNE	T CAROTIDIEN	p value
Longueur moyenne \pm ET (mm)	11,4 \pm 4,8	17 \pm 10,5	p=0,2
Largeur moyenne \pm ET (mm)	2,5 \pm 0,8	4,3 \pm 0,9	p=0,006

Résultats (4)

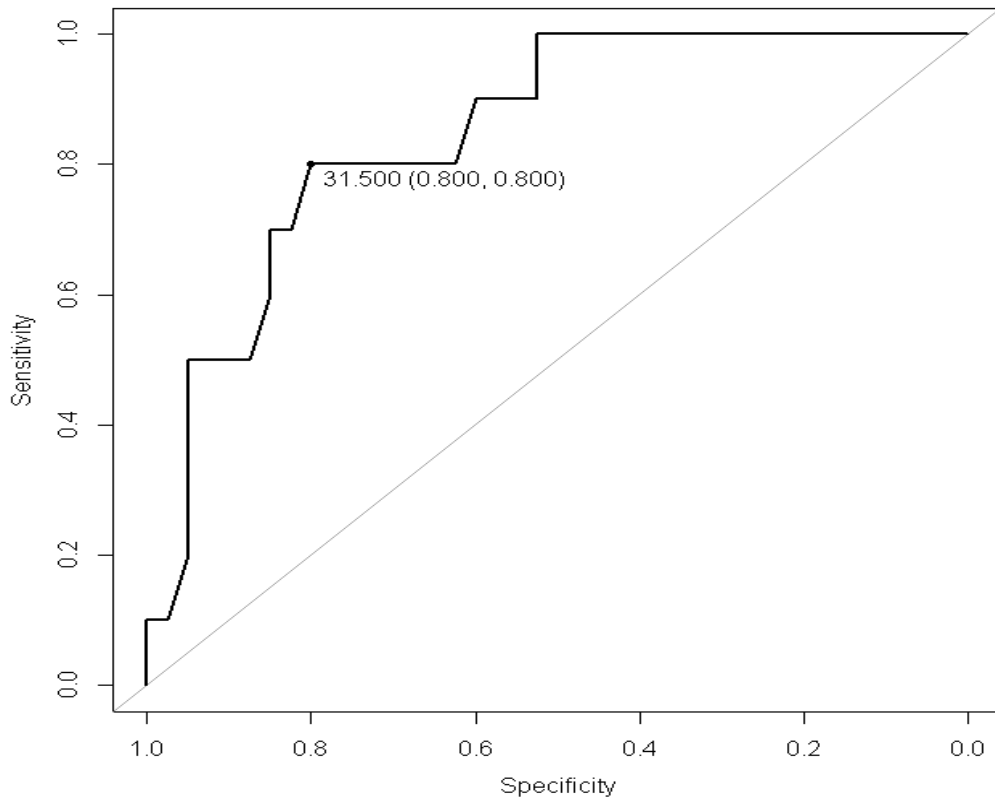
Etude comparative, immunohistochimie, CD3

	Tous	Groupe non athérothrombose (n=44)	Groupe athérothrombose(n=10)	p-value
NOMBRE CD3+ zone riche	27,77 ± 23,92	21,77 ± 18,31	53,60 ± 28,78	0,0005
NOMBRE CD3+ zone faible	7,58 ± 10,35	6,12 ± 9,47	13,90 ± 12,07	0,002

	Tous	Groupe cardioembolique (n=25)	Groupe athérothrombose (n=10)	p-value
NOMBRE CD3+ zone riche	27,77 ± 23,92	20,08 ± 15,66	53,60 ± 28,78	0,0003
NOMBRE CD3+ zone faible	7,58 ± 10,35	5,42 ± 10,39	13,90 ± 12,07	0,0013

	Tous	Groupe cardioembolique (n=25)	Groupe non cardioembolique(n=44)	p-value
NOMBRE CD3+ zone riche	27,77 ± 23,92	20,08 ± 15,66	34,14 ± 27,72	0,005
NOMBRE CD3+ zone faible	7,58 ± 10,35	5,42 ± 10,39	9,38 ± 10,14	0,12

- Courbe ROC : **seuil de 31,50** LT CD3+ en zone richement marquée = **discriminant causes athérotrombotiques** des autres causes



Seuil : 31,50

Sensibilité : 0,80 (Intervalle de confiance : 0,50 – 1,00)

Spécificité 0,80 (0,67 – 0,92)

VPP : 0,50

VPN : 0,94

Résultats (5)

Etude comparative, immunohistochimie, CD20 et CD68

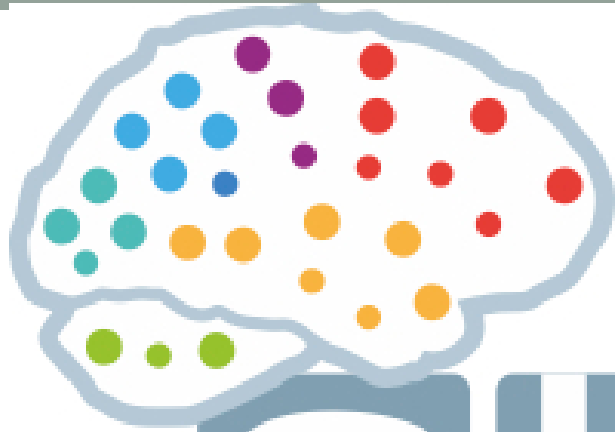
- pas de différence significative concernant le nombre de **lymphocytes B CD20+** entre les différents groupes
- pas de différence significative concernant la densité en **cellules CD68+** entre les différents groupes

Discussion

- **Thrombi d'origine athéro-thrombotique = + de LT CD3**, seuil de 31,5 LT CD3+ les discriminant avec une bonne Se, Sp et VPN
- **Aucune donnée disponible concernant les leucocytes au sein des thrombi intracrâniens** : difficile d'avancer des hypothèses physiopathologiques quant au rôle des différentes populations de leucocytes dans la formation du thrombus
- Différences contenu LT CD3 + :
 - différences initiales ?
 - après, au cours de l'embolisation dans l'arbre artériel ? *mais cellules nucléées dispersées au sein du thrombus et non restreints au niveau de ses berges..*
- Littérature cardiologique suggère un rôle des leucocytes dans la croissance du thrombus

Perspectives

- Techniques endovasculaires de traitement de l'infarctus cérébral = investigations sur thrombi autrefois inaccessibles
- Utilisation du **CD3** au sein du thrombus intracrânien **comme biomarqueur étiologique de cause athérombotique?**
- Adaptation des **stratégies de prévention secondaire** après la survenue d'un infarctus cérébral et diminution de taux de récurrence ischémique ?
- Travail ultérieur : valider et tester la pertinence du marqueur



Stroke Live Course

SLiCE

THE MULTIDISCIPLINARY STROKE TEAM MEETING

NICE , 7 - 9 Septembre

3 jours d'interactivité multidisciplinaire sur la prise en charge des occlusions des gros vaisseaux.

*Neurologues

*Anesthésistes

*Neuroradiologues