

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET

DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB – BLIDA

FACULTÉ DE MEDECINE

DÉPARTEMENT DE PHARMACIE



Thèse de fin d'étude

Présentée en vue de l'obtention du titre de Docteur en Pharmacie

LES ÉTIOLOGIES DES THROMBOPÉNIES

Session juillet 2019

Présenté par :

- BOUZIDI Hasna
- BENRAAD Naila

Encadré par :

Dr. AMMOUR Nassima Maitre assistante en hématologie médicale

Présenté devant le jury :

Dr. BENAMARA Mounia Présidente de jury Maitre assistante en microbiologie médicale

Dr. AZROU Sihem Examinatrice Maitre assistante en microbiologie médicale

Dr. HAMOUL Houda Examinatrice Maitre assistante en hématologie médicale

REMERCIEMENTS :

Nos remerciements, avant tout, à DIEU tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces longues années d'études afin que nous puissions arriver à ce stade.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre promotrice Dr. AMMOUR Nassima, nous la remercions sincèrement de nous avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.

Nos remerciements vont également à Dr. BENAMARA Mounia présidente de Jury et Dr. AZROU Sihem et Dr. Hamoul Houda pour avoir acceptés d'évaluer notre travail.

Nous désirons aussi remercier nos enseignants de département de Pharmacie université SAAD DAHLAB - BLIDA, qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études universitaires.

Un grand merci également à Pr. ABDI et au personnel du laboratoire central du CHU Blida pour avoir eu la patience de répondre à toutes nos questions aux cours des différents stages.

Afin qu'on oublie personne, nos vifs remerciements s'adressent à toutes personnes qui a aidée de près ou de loin à la réalisation de ce modeste mémoire .

DEDICACE

Je dédié ce travail...

A mes chers parents

si on devait décerner le diplôme des meilleurs parents au monde, il serait à eux sans nul doute, car nous, ces enfants on était vraiment privilégiés par le bon Dieu en n'ayant comme parents .

Je me rappelle toujours de tous les moments où ils m'ont poussé à travailler et à réussir. Ils étaient là tout le temps à me soutenir et à m'aider.

Je les remercie pour toutes les grandes sacrifices consentis à mon égard, en vue de m'assurer une vie heureuse, et pour ce qu'ils ont fait et feront encore pour nous.

A mon cher époux Amine

Quand je l'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie, mon âme sœur et la lumière de mon chemin.

Je le remercie pour son soutien , son encouragement que je le sens émaner du fond de son cœur.

Aucun mot ne saurait l'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont il m'a toujours entouré.

J'aimerais bien que il trouves dans ce travail l'expression de mon profond amour, puisse Dieu, le tout puissant, le préserver et l'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes chers frères: Lamia et Sarah et Ilyes

Les mots ne sauraient exprimer l'entendue de l'affection que j'ai pour eux et ma gratitude. Je leur souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de prospérité.

Qu'ALLAH vous bénisse et vous protège tous.

A mes beaux-parents :

Qu'ils toujours étaient présents pour les bons conseils.

Leur affection et leur soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle.

A mon oncle Saâd :

Qui m'a conseillé précieusement toute au long de ma formation et qu'il trouve le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A La mémoire de mes grands-parents maternels et paternels :

Je sais que s'ils étaient parmi nous, ils auraient sans doute été heureux et fiers. Que leurs âmes reposent en paix. Que Dieu tout puissant leur accorde sa clémence et sa miséricorde.

NAILA

Je dédie cette thèse...

A mes chers parents : Lamine et Laila

A qui je dois tout, et pour qui aucune dédicace ne saurait exprimer, merci pour tout ce que vous m'avez apporté depuis ma naissance et ce que vous m'apportez encore aujourd'hui. Puisse Dieu être le témoin de ma profonde reconnaissance et vous accorder la santé, le bonheur et une longue vie.

A mon frère Billel mon fidèle compagnon, tu es le premier que je puisse appeler dans les moments les plus délicats sans être déçu qu'ALLAH te garde en bonne santé .

A mes chers sœurs Imen , Naoual et mon petit Ibrahime qu'ils doutent mon absence, c'est fini la distance entre nous et que rien nous ne sépare .

A ma grande mère paternelle ma source de tendresse Ce travail est pour moi le fruit de tes prières. C'est à travers tes encouragements que j'ai opté pour les études en pharmacie, et c'est à travers tes critiques que je me suis réalisée. J'espère avoir répondu aux espoirs que tu as fondés en moi.

A ma petite Meriem , Meriem et Hafsa A tous les moments agréables qu'on a partagé , pour tous ces délires et fous rires vécus ensemble, à tous nos souvenirs ! Je prie Dieu le tout puissant pour nous garder, à jamais, unis en pleine amour, joie et prospérité.

A mon fiancé et mon âme sœur Mohamed ton soutien moral, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement, tes conseils et tes encouragements m'ont permis de réussir de ce travail.

A toute ma famille, mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines : vous avez Toujours été là pour moi, à partager les moments les plus difficiles, mais aussi les plus joyeux. Je vous dédie ce travail, en guise de reconnaissance de votre amour, votre affection, votre tendresse, votre compréhension et votre générosité avec tous mes voeux de bonheur, santé, succès et de réussite.

A la mémoire de mon grand-père J'espère que tu sois fier de moi ! Puisse ALLAH le tout puissant t'accorder sa clémence, sa miséricorde et t'accueillir dans son paradis.

A mes chers grands-parents maternels Je vous dédie cette thèse en témoignage de gratitude d'estime et d'attachement. Puisse dieu vous accorder santé, longue vie et prospérité.

A toute ma deuxième famille qui était crée par les moments difficiles et heureuse dans la cité universitaire , Je vous souhaite tout le bonheur du monde.

HASNA

Résumé :

Titre: étiologies des thrombopénies

Mots clés: Thrombopénie, étiologies, Diagnostic, Traitement

La thrombopénie est la présence d'un nombre de plaquettes inférieur à $150 \times 10^9/l$, elle expose à des complications hémorragiques. Une thrombopénie peut être due à un défaut de la production médullaire des plaquettes «thrombopénie centrale » ou à une anomalie de leur répartition dans le sang circulant caractéristique de l'hypersplénisme, à une consommation exagérée due à une coagulation intravasculaire disséminé ou à un syndrome de micro-angiopathie thrombotique, et enfin à leur destruction immunologique par l'intermédiaire de la fixation sur leur membrane de complexes immuns ou d'allo- ou d'autoanticorps « thrombopénie périphérique ». Au cours des thrombopénies centrales, la thrombopénie est généralement associée à une anomalie des autres lignées sanguines qui orientent le diagnostic. Au cours des thrombopénies par consommation, l'étude de l'hémostase montre des signes de coagulation intravasculaire et l'analyse du frottis sanguin montre la présence de schizocytes

en cas de microangiopathie. En cas d'anomalie de répartition, il existe habituellement une splénomégalie en rapport avec une hypertension portale. Le diagnostic de thrombopénie immunologique (purpura thrombopénique immunologique PTI) est un diagnostic d'élimination : la thrombopénie est isolée, l'examen clinique est normal en dehors d'éventuels signes hémorragiques et l'étude de l'hémostase est normale. Dans les cas difficiles, l'analyse de myélogramme peut être utile. Le traitement de la thrombopénie est conditionné par le mécanisme de la thrombopénie et l'évaluation du risque de survenue et/ou de la gravité du syndrome hémorragique .

ABSTRACT :

Title : étiology of thrombocytopenia

Key words : Thrombocytopenia, étiology , Diagnostis, Treatment

Thrombocytopenia is the presence of a number of platelets less than $150 \times 10^9 / l$, it exposes hemorrhagic complications.

Thrombocytopenia may be due to a lack of medullary platelet production « central thrombocytopenia », or an abnormality in their distribution in the circulating blood characteristic of hypersplenism, excessive consumption due to intravascular coagulation syndrome. thrombotic microangiopathy, and finally their immunological destruction via the binding of immune complexes or allo- or autoantibodies to their membranes « peripheral thrombocytopenia ».

In central thrombocytopenia, thrombocytopenia is usually associated with an abnormality of the other blood lines that guide the diagnosis. During consumption thrombocytopenia, the study of hemostasis shows signs of intravascular coagulation and the analysis smear shows the presence of schizocytes in case of microangiopathy. In case of abnormal distribution, there is usually splenomegaly related to portal hypertension. The diagnosis of immunological thrombocytopenia (immunological thrombocytopenic purpura ITP) is a diagnosis of elimination: thrombocytopenia is isolated, the clinical examination is normal apart from any signs of haemorrhage and the study of haemostasis is normal. In difficult cases, myelogram analysis may be useful .

The treatment of thrombocytopenia is conditioned by the mechanism of thrombocytopenia and the evaluation of the risk of occurrence or severity of the bleeding syndrome.

ملخص:

أطروحة: أسباب نقص الصفائح الدموية.

الكلمات الأساسية: نقص الصفائح الدموية، أسباب، تشخيص، علاج.

نقص الصفائح الدموية هو وجود عدد من الصفائح الدموية أقل من 150×10^9 / لتر، ويؤدي هذا النقص إلى ظهور نزيف.

قد يكون نقص الصفائح الدموية ناتجا عن نقص إنتاج النخاع العظمي لهذه الأخيرة نقص (الصفائح الدموية المركزية)، كما قد يكون نقص هذه الصفائح ناتج عن خلل توزيعها في الدم، أو إستهلاكها المفرط خلال التخثر المنتشر داخل الأوعية، وخلال الإعتلال الأوعية الدقيقة التخثري، أو تدميرها بواسطة مضادات الأجسام و المركب المنيع نقص (الصفائح الدموية المحيطية).

خلال نقص الصفائح الدموية المركزية فإن نقص هذه الصفائح يكون مصحوبا بخلل في مكونات الدم الأخرى مما يساعد على التشخيص، أما نقص الصفائح المتعلق بإستهلاكها: فعند دراسة تخثر الدم تتبين علامات تمكننا من تشخيص التخثر المنتشر داخل الأوعية، أما تشخيص الاعتلال الاوعية الدقيقة التخثري فيعتمد على دراسة لطخة الدم ووجود فصيمة كروية.

إختلال توزيع الصفائح الدموية يكون عادة مصحوبا بتضخم الطحال الذي يظهر أثناء فرط ضغط الدم البابي، أما تشخيص الفرغرية قليلة الصفائح الدموية فيعتمد على إقصاء جميع الأسباب الأخرى التي تؤدي الى نقص الصفائح الدموية المحيطية. علاج نقص الصفائح الدموية مشروط بالية نقص الصفائح وتقييم مخاطر حدوث نزيف.

Liste des tableaux :

Tableau 1 : principales protéines de la membrane plaquettaire	17
Tableau 2 : classification physiopathologique des thrombopénies	27
Tableau 3 : les éléments figurés du sang d'un frottis colorés par MGG sous microscope optique	49
Tableau 4 : critères d'imputabilité d'une thrombopénie médicamenteuse idiosyncrasique.....	53
Tableau 5 : les mécanisme immuno-allergiques des médicaments thrombopéniants	54
Tableau 6 : molécules impliquées dans les thrombopénies immunitaires liées aux médicaments	56
Tableau 7 : score des 4T de Warkentin.....	62

Tableau 8 : les médicaments provoquant une thrombopénie centrale..... 79

Liste des figures :

Figure 1 : Schéma résume les étapes de production plaquettaire.....6
Figure 2 : Image illustrant la détection en immunofluorescence de la tubuline du fuseau mitotique des endomitoses mégacaryocytaires 8
Figure 3 : Le mégacaryoblaste (stade I) de la moelle colorée au May-Grünwald-Giemsa.....8
Figure 4 : mégacaryocyte basophile (stade II)de la moelle colorée au MGG.....9

Figure 5 : Le mégacaryocyte granuleux (stade III) de la moelle colorée au MGG.....	9
Figure 6 : Le mégacaryocyte mature (stade VI) de la moelle colorée au MGG	10
Figure 7 : Image illustrant l'aspect en microscopie électronique d'un mégacaryocyte mature en cours de libération de plaquettes	10
Figure 8 : Schéma récapitulatif de la régulation humorale de la mégacaryopoïèse	11
Figure 9 : Schéma récapitulatif de la régulation moléculaire de la mégacaryopoïèse	12
Figure 10 :Photo de plaquette activée et plaquette non activée en microscopie électronique	13
Figure 11 : Schéma des récepteurs membranaire de la plaquette et ses ligands	15
Figure 12 : Structure schématique d'une plaquette.....	18
Figure 13 : Image illustrant la sécrétion plaquettaire.....	21
Figure 14 : Image illustrant la formation de l'agrégat plaquettaire	21
Figure 15 :schéma explique le mécanisme de la fonction plaquettaire dans l'hémostase primaire	23
Figure 16 : Purpura thrombopénique	28
Figure 17 : Comptage sur cellule de Malassez.....	32
Figure 18 :Visualisation des agrégats plaquettaire sur les histogrammes des automates.....	34
Figure 19 : Schéma de la procédure de réalisation d'un frottis.....	36
Figure 20 : Exemple de frottis sanguin	37
Figure 21 : Agrégation plaquettaire liée à EDTA	41
Figure 22 : Satellitisme des PLT autour des PNN (coloration MGG)	42
Figure 23 : Plaquette géante (coloration MGG).....	43
Figure 24 : Représentation schématique d'un cytométrie en flux.....	47
Figure 25 : Courbe d'agrégation plaquettaire	48
Figure 26 : Plaquettes de petite taille. Syndrome de Wiskott-Aldrich.....	71
Figure 27 : plaquettes géantes de la maladie de Bernard et Soulier	73
Figure 28 Hétérogénéité de taille des plaquettes et du contenu en granulations. Syndrome des plaquettes grises par déficit en granules alpha	74

ABREVIATION :

51Cr : chrome 51.	ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay.
ABP : actin binding protein.	EPO : érythropoïétine.
ADN : acide désoxyribonucléique.	EPS : Electrophorèse sérique.
ADN : Acide désoxyribonucléique.	FcR : Fragment, crystallizable receptor.
ADP : l'adénosine diphosphate..	FM : frottis manuel .
AF : anémie de Fanconi.	FOG-1 : friend of GATA-1.
AHC : les automates d'hématologie cellulaire.	FT : facteur tissulaire.
AI : les association doxorubicine + ifosfamide.	FVW : le facteur Von Willebrand.
AINS : les anti-inflammatoires non stéroïdiens.	GAG : glycosaminoglycanes.
ALAT : Alanine aminotransférase.	GATA-1 : transcription factor 1.
AM : aplasie médullaire.	G-CSF : granulocyte-colony stimulating factor.
AML1 : acute myeloid leukemia 1.	GDP : Guanosine diphosphate.
APL : anti-phospholipides .	GEHT : groupe d'étude hémostasie et thrombose .
ASAT : aspartate aminotransférase.	GMP : <u>Guanosine monophosphate.</u>
ATCD : antécédents.	GP : les glycoprotéines.
ATP : l'adénosine triphosphate.	GR : globule rouge .
AVK : anti vitamine K.	GTPase : la guanosine triphosphatase.
AVK : antivitamines K.	GYPGQV : peptide activating PAR4.
BFU-E/MK : burst forming unit-erythroid and megakaryocyte.	HBPM : héparines de bas poids moléculaire.
BFU-MK : forming unit- megakaryocyte.	HELLP : pré-éclampsie, syndrome Hemolysis, Elevated Liver function tests, Low Platelet count.
CADP : collagène/ADP.	HNF : héparine non fractionnée.
CD : classes de différenciation.	HPA : human platelet antigen
CEPI : collagène/épinéphrine.	HPA : human platelet antigen.
CFU-MK : colony forming unit-megakaryocyte.	ICE : Les associations ifosfamide + carboplatine + étoposide.
CGR : concentrés de globules rouges.	IFN : interférons.
CIVD : coagulation intravasculaire disséminée.	Ig : immuno- globuline
CIVD : coagulation intravasculaire disséminée.	Ig : les immunoglobulines.
CMV : cytomégalovirus.	IL : l'interleukine.
CMV : cytomégalovirus.	INR : international normalized ratio.
CP : concentrés de plaquettes.	ITIM : immuno-tyrosine based inhibition motifs.
CSH : les cellules souches hématopoïétiques.	LAL : leucémie aiguë lymphoblastique.
E. coli : Escherichia coli.	LAM : leucémie aiguë myéloblastique.
EBV : virus d'Epstein-Barr	LAMP : Lysosomal-associated membrane protein.
EDTA : éthylènediaminetétraacétique.	LDH : lactates déshydrogénases.
EGF : Epidermal Growth Factor.	

le gène MYH9 (pour Myosine HeavyChain9)
LED : lupus érythémateux disséminé.
LIF : leukemia inhibiting facteur.
LIMP: lysosomal integral membrane protein.
LMC : leucémie myéloïde chronique.
MAI : maladie auto-immune.
MAID : les associatin mesna + doxorubicine + ifosfamide + dacarbazine.
MAIPA : monoclonal antibody immobilized platelet antigen.
MAT : microangiopathies thrombotiques.
MG : May-Grunwald.
MGG : mayGrünwald-Giemsa
MGG : May-Grünwald-Giemsa.
Mpl-R : récepteur de thrombopoïétine.
MYH9 : syndromes de May-Hegglin, de Fechtner, d'Epstein, de Sebastian,
NBEAL2 : Neurobeachin-like2.
NFS : numération de la formule sanguine .
OMS : organisation mondiale de la santé.
P2Y : purinoceptor.
PAI 1 : inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type I.
PAR : Protease Activated Receptor.
PDGF : platelet derived growth factor.
PDGF : platelet-derived growth factor.
PECAM : platelet endothelial cell adhesion molecule.
PF3 : platelet factor 3.
Pf4 : facteur plaquettaire 4
PF4 : platelet factor 4.
PF4 : platelet factor 4.
PF4-H : platelet factor 4 – héparine.
PFA : platelt function analyzer.
PGI2 : prostaglandine I₂ainsi.
PL : phospholipides .
PL : phospholipases.
PLT : plaquette.
PNN : polynucléaires neutrophiles.
PPP :plasma pauvre en plaquettes.
PPT : le purpura post-transfusionnel.
PRP : plasma riche en plaquettes.

PSL : produit sanguin labile.
PTAI : purpura thrombopénique auto-immunologique.
PTE : pseudo- thrombopénie liée à l'EDTA.
PTI : purpura thrombopénique immunologique.
Rab : Ras-proximate-1 ou Ras-related protein.
Rap : Ras-proximate-1 ou Ras-related protein.
Récepteurs TP : récepteurs du thromboxane.
REG : réticulum endoplasmique granuleux
RGD : La séquence RGD est un tripeptide constitué d'arginine, de glycine et d'acide aspartique.
RhoA : Ras homolog gene family, member A.
RUNX 1 : le facteur runt-related transcription factor 1.
SASC : syndrome d'activation systémique de la coagulation.
SCCS : le système canaliculaire connecté à la surface.
SCF : stem cell factor.
SFLLRN : thrombin receptor activating peptide.
SHU : syndrome hémolytique et urémique.
SMD : syndromes myélodysplasiques.
Src : sarcome.
STD : système tubulaire dense.
STEC : Shiga toxin-producing Escherichia coli.
TAP : test d'agrégation plaquettaire.
TCA : temps de céphaline activé .
TFPI : l'inhibiteur du facteur tissulaire.
TG : thromboglobuline.
TGF : de l'anglais transforming growth factor.
TGF- β : transforming growth factor β .
TGF- β : Transforming growth factor β .
THPM : très haut poids moléculaire.
TIH : thrombopénie induite par l'héparine.

TMEM16F : Transmembrane protein 16F.

TNAI : thrombopénies fœtales et néonatales allo-immunes.

TNF : tumor necrosis factor.

Top : temps d'occlusion plaquettaire .

TP : taux de prothrombine.

TPO : thrombopoïétine.

TP α : le récepteur du thromboxane A2.

TQ : temps de quick .

TS : temps de saignement.

TxA2 : thromboxane A2.

VEGF : vascular endothelial growth factor.

VEGF :vascularendothelial growth factor.

VHB : virus de l'hépatite B.

VHC : virus de l'hépatite C.

VIH : virus de l'immunodéficience humaine.

VIH : virus de l'immunodéficience humaine.

VMP : volume plaquettaire moyen.

Vwf :facteur de von willebrand

WAS : wiskott aldrich syndrome.

β TG : β thromboglobuline.

β TG : β -Thromboglobulin.

Glossaire :

-Concentré Plaquettaire d'Aphérèse (CPA) : les concentrés de plaquettes d'aphérèse (CPA) sont obtenus à la suite du prélèvement d'un seul donneur de plaquettes. Ce type de don est réalisé à l'aide d'un automate d'aphérèse, qui permet de réaliser la séparation des composés du sang, afin de récupérer les plaquettes du donneur dans une poche et de lui restituer les autres constituants du sang au donneur.

-Concentré Plaquettaire Standard (MCPS) : les concentrés plaquettaires standards (MCPS) sont obtenus à partir de l'extraction des plaquettes provenant de plusieurs dons de sang total. Le sang total est dans un premier temps centrifugé. Les différents constituants sont ensuite séparés dans des poches différentes (Concentrés de globules rouges, plasma et concentrés de plaquettes). Les concentrés de plaquettes provenant des dons de sang sont ensuite déleucocytés.

La thromboplastine est un facteur de coagulation, désigné par le chiffre romain III (facteur III), nécessaire à l'activation de la voie extrinsèque de la coagulation.

-Escherichia coli : Escherichia coli, également appelée colibacille et abrégée en E. coli, est une bactérie intestinale (Gram négatif) des mammifères, très commune chez l'être humain. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. Cependant, certaines souches d'E. coli peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou sepsis.

-Sepsis : le sepsis est défini comme un dysfonctionnement d'organe secondaire à une réponse inappropriée de l'hôte envers une infection.

-Thrombopoïétine (TPO) : la thrombopoïétine (TPO) est une hormone qui stimule la formation de plaquettes sanguines et la prolifération de leurs précurseurs (les mégacaryocytes), Elle est synthétisée par le foie et les reins.

-Thrombine : un produit sanguin labile, PSL, est un produit à usage thérapeutique issu d'un don de sang. Il peut s'agir d'un don de sang total, ou d'un don de sang par aphérèse, Trois grands types de produits entrent sous cette dénomination :

-Les concentrés érythrocytaires ou concentrés de globules rouges (CGR).

-Les concentrés de plaquettes.

-Les plasmas frais congelés.

-Cytokines : les cytokines (du grec cyto, cellule, et kinos, mouvement) sont des substances solubles de signalisation cellulaire synthétisées par les cellules du système immunitaire ou par d'autres cellules ou tissus, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction .

-Chimiokine : les chimiokines sont des cytokines chimiotactiques qui contrôlent les motifs de migration et le positionnement des cellules immunitaires. Leur fonction la plus étudiée est l'attraction (chimiotactisme) et le contrôle de l'état d'activation des cellules du système immunitaire.

-Une glycoprotéine : une glycoprotéine est une protéine portant un ou plusieurs groupements oligosides. C'est un hétéroside (composé de plusieurs oses différents) dont le premier motif glucidique est fixé de façon covalente à la chaîne polypeptidique.

-Corticoïdes : les corticostéroïdes, appelés plus simplement corticoïdes¹, sont des hormones stéroïdiennes sécrétées chez les êtres humains par le cortex des glandes surrénales.

-La chimiothérapie : la chimiothérapie est l'usage de certaines substances chimiques pour traiter une maladie. C'est une technique de traitement à part entière au même titre que la chirurgie ou la radiothérapie.

-Globules rouges : les globules rouges, aussi appelés hématies ou érythrocytes, sont les cellules du sang chargées du transport de l'oxygène. Plus précisément, c'est le pigment qu'elles contiennent, l'hémoglobine, qui se lie à l'oxygène pour l'apporter à toutes les cellules de l'organisme.

-Plasma : le plasma est obtenu par simple centrifugation sans coagulation préalable (donc prélevé dans un tube contenant des anticoagulants) .

-Sérum : le sérum est le liquide sanguin débarrassé de ses cellules et des protéines de la coagulation. c'est le liquide surnageant obtenu après coagulation et centrifugation du sang dans un tube « sec », c'est-à-dire sans inhibiteur de la coagulation.

Table des matières

Resumé	5
Liste des tableaux	8
Liste des figures	9
Liste des abréviations	10
Glossaire	13
Introduction	1
Chapitre I : Généralités	3
1. Définition	4
2. Epidémiologie	4
Chapitre II : Rappel physiologique	5
1. production des plaquettes	6
1.1. Mégacaryopoïèse	6
1.2. Plaquetto-genèse	10
1.3. Régulation de la mégacaryopoïèse	11
1.3.1. Régulation humorale : extrinsèque	11
1.3.2. Régulation moléculaire : intrinsèque	12
2. Mort physiologique des plaquettes	12
3. Morphologie des plaquettes	12
3.1. Plaquettes sous microscope optique	13
3.2. En microscopie électronique	13
3.3. La biochimie plaquettaire	13
3.3.1. Glycocalix	14
3.3.2. Membrane plaquettaire	14
3.3.2.1. Les systèmes membranaires	14
3.3.2.2. Les lipides	14
3.3.2.3. Les récepteur	15
3.3.2.4. Le cytoplasme	17
4. Rôles et fonctions des plaquettes	19
4.1. Rôle des plaquettes dans l'hémostase primaire	19
4.1.1. Adhérence et activation plaquettaire	19
4.1.2. La sécrétion	21
4.1.3. Agrégation plaquettaire	21
4.1.4. Le rôle procoagulant des plaquettes	22
4.2. Plaquettes ,inflammation et immunité	23
4.3. Remodelage vasculaire postnatal	23

4.4. Angiogenèse et cancer.....	24
CHAPITRE III : Le mécanisme de thrombopénie	25
1. Thrombopénies périphériques	26
1.1. Hyper destruction	26
1.2. Hyper consommation	26
1.3. Anomalie de répartition.....	26
2. Les thrombopénies centrales	26
3. Les conséquences clinique de la thrombopénie.....	27
CHAPITRE IV : Le diagnostic biologique.....	29
1. Circonstance de découverte.....	30
1.1. Signes hémorragiques surtout purpuriques	30
2. Examen pré-analytique.....	30
2.1. Interrogatoire et examen clinique	30
2.2. Prélèvement.....	31
2.2.1. Préparation du patient.....	31
2.2.2. Les méthodes de prélèvement	31
3. Diagnostic positif	32
1. Numération formule sanguine (NFS)	32
1.1. Technique manuelle (numération en cellule de comptage).....	32
1.2. Automate	33
1.2.1. La technique de mesure par impédance.....	33
1.2.2. La technique de mesure par diffraction lumineuse.....	33
1.2.3. Mise en évidence des PLTs sur les automates.....	33
1.2.4. Résultats sur automate.....	35
1.2.5. Evaluer le risque hémorragique	35
2. Le frottis sanguin	35
2.1. Principe.....	35
2.2. Confection	36
2.3. Bon frottis.....	37
2.4. Coloration.....	37
2.4.1. Les constituants chimiques de la coloration de MGG.....	37
2.4.2. Mécanisme d'action	38
2.4.3. Etapes de colorations.....	38
2.4.4. Etude de frottis sanguin.....	39
2.4.4.1. Les pseudo-thrombopénies dues aux erreurs pré analytiques.....	40
2.4.4.2. Agglutination dépend de l'EDTA	41
2.4.4.3. Satellitisme des plaquettes autour des leucocytes	41
2.4.4.4. Les macrothrombocytes ou plaquettes géantes	42
2.4.4.5. Activité agglutinine froide des cryoglobulines IgM monoclonale (type1) vis-à-vis des plaquettes.....	43
2.4.4.6. Les Pseudo-thrombopénies de nature chimique	43
4. Diagnostic du mécanisme de la thrombopénie.....	43

4.1. Temps de saignement	43
4.2. Le temps d'occlusion plaquettaire.....	44
4.3. Bilan global	44
4.3.1. Le temps de céphaline activée (TCA)	44
4.3.2. Le temps de Quick (TQ) ou taux de prothrombine (TP)	45
4.4. Myelogramme	45
4.5. Etude isotopique de la durée de vie des plaquettes	45
4.6. Etude immunologique	45
4.6.1. Détermination des anticorps anti-plaquettes.....	45
4.6.1.1. MAIPA	45
5. Tests pour les granule	48
6. Examens complémentaires	48
6.1. Sérologie virale.....	48
6.2. Screening global d'anticorps anti-phospholipides.....	48
6.3. Bilan d'auto-immunité	48
6.3.1. Electrophorèse sérique	48
6.3.2. Anticorps anti-ADN natif.....	49
6.3.3. le test de Coombs direct	49
CHAPITRE V : Le diagnostic étiologique	50
I. L'interrogatoire	51
II. Thrombopénies périphériques	51
1. La destruction immunologique	51
1.1. Le purpura thrombopénique auto-immunologique (PTAI)	51
1.2. La thrombopénie des maladies auto-immune.....	52
1.3. La thrombopénie médicamenteuse (immuno-allergique).....	52
1.3.1. Les anticorps induits par un haptène	54
1.3.2. Les thrombopénies de type quinine-quinidine.....	54
1.3.3. Les thrombopénies induites par les séquences RGD mimétiques	54
1.3.4. Les thrombopénies induites par l'abciximab.....	55
1.3.5. Les molécules responsables du développement d'auto anticorps	55
1.3.6. La thrombopénie immunitaire liée à l'héparine	56
1.4. Thrombopénies induites par l'héparine	57
1.4.1. La classification.....	57
1.4.2. Physiopathologie de TIH type II	57
1.4.3. Fréquence et manifestations cliniques de TIH type II.....	58
1.4.4. Diagnostic	59
1.5. Thrombopénies post-infectieuses	61
1.6. Incompatibilité plaquettaire et purpura post-transfusionnel.....	63
1.7. La thrombopénie de grossesse.....	63
1.8. La thrombopénie neonatal allo-immune.....	64
2. Consommation et activation plaquettaire	64
2.1. La coagulation intravasculaire disséminée (CIVD)	64
2.2. Microangiopathies thrombotiques (MAT)	64

2.2.1.Syndrome moschowitz	65
2.2.2.Syndrome hémolytique et urémique.....	65
2.3.Le syndrome de Kasabach-Merritt	66
3. Thrombopénies par anomalie de répartition	66
3.1. Thrombopénie par séquestration :(hypersplénisme).....	66
3.2. Thrombopénie de dilution : (Transfusion massive).....	66
III. Thrombopénie centrals	66
1. Déficit quantitatif de la thrombopénie	66
1.1 Avec insuffisance de plusieurs lignes	66
1.1.1. Envahissement medullaire.....	66
1.1.2.Moelle osseuse aplasique	67
1.1.2.1.Héréditaire : La maladie de Fanconi	67
1.1.2.2. Acquise.....	67
1.1.2.2.1. Aplasie post hépatitique idiopathique.....	67
1.1.2.2.2. chimiothérapie et radiothérapie	67
1.1.2.2.3. Toxicité medicamenteuse	68
1.2. Avec insuffisance selective de la ligne megacaryocytaire	69
1.2.1. Hériditaire : Amegacaryocytose précédant l' aplasie medulaire	69
1.2.2. Acquise.....	70
1.2.2.1. Intoxication éthylique.....	70
1.2.2.2. Infection viral	70
1.2.2.3. infection bactérienne	70
1.2.2.4. certain médicaments	70
2.Déficit qualitatif : thrombopénie par thrombopoiese inefficace	71
2.1.Héréditaire.....	71
2.1.1.Syndrome de Wiskott-Aldrich.....	71
2.1.2.Syndromes MYH9.....	71
2.1.3. Macrothrombocytopenie familiale mediterraneinne	72
2.1.4. Syndrome de Bernard-Soulier	72
2.1.5.Syndrome des plaquettes grises.....	73
2.1.6. La thrombopénie Paris-Trousseau	74
2.1.7 Syndrome plaquettaire pseudo willebrand	74
2.2 acquise.....	75
2.2.1 Thrombopénie dans le syndrome myelodisplasique.....	75
2.2.2 Carence en vitamine B12	75
CHAPITRE VI : La prise en charge et traitement	76
1.Confirmation de la réalité de la thrombopénie	77
2.Évaluer la gravité de la thrombopénie	77
3. La conduite diagnostique biologique et étiologique	77
4.Prise en charge thérapeutique	78
4.1.Indication de transfusion de concentré plaquettaire	78
4.2. Traitement des thrombopénies périphériques.....	78
4.2.1.Traitement de purpura thrombopénique immunologique.....	78

4.2.2.Thrombopénies immunoallergiques médicamenteuses	78
4.2.3.Thrombopénies induite par l’héparine.....	79
4.2.4.Traitement d'une coagulation intravasculaire disséminée	79
4.2.5.Traitement Syndromes des antiphospholipides	79
4.2.6.Thrombopénies virales	79
4.2.7.Thrombopénie gestationnelle	79
4.2.8.Les micro-angiopathies thrombotiques	80
Conclusion	82
Références bibliographiques et webographiques	83
Références des figures et Tableaux	94
Annexes	96

INTRODUCTION

Thrombocytes [164] Les plaquettes sanguine sont des cellules sanguines anucléées discoïdes provenant de la fragmentation du cytoplasme de grandes cellules de la moelle osseuse [1,2], Leur durée de vie est estimée de 7 à 10 jours. Elles sont éliminées par les macrophages du système réticulo-histiocytaire de la rate, de la moelle osseuse et du foie [3].

Leur fonction majeure est d'assurer l'hémostase, elles sont les premiers éléments à intervenir pour arrêter le saignement dû à une lésion vasculaire, limiter les pertes sanguines et permettre la cicatrisation. Après que les plaquettes aient formé une première barrière limitant le saignement, le caillot est consolidé par la formation d'un réseau de fibrine organisé autour d'agrégats plaquettaires [4].

Un déficit quantitatif ou qualitatif des plaquettes conduit respectivement à une thrombopénie ou thrombopathie et constitue un risque hémorragique. En revanche, l'activation inappropriée des plaquettes dans un vaisseau constitue un risque de thrombose [4].

Les thrombopénies [162], ou hypoplaquettose[163] sont des anomalies de l'hémogramme relativement fréquentes et qui peuvent être révélatrices de pathologies variées.[161]

Dans tous les cas il est important d'affirmer la réalité de cette diminution des plaquettes, d'évaluer le risque hémorragique, de reconnaître le mécanisme central ou périphérique et d'établir le diagnostic étiologique[161].

Parmi les étiologies de mécanisme périphérique, le Purpura thrombopénique auto immunitaire [164] représente la situation la plus courante. Son diagnostic repose sur l'élimination des autres causes : virales, médicamenteuses, CIVD et hypersplénisme. [161]

Au cours de ce mémoire, les différentes étiologies des thrombopénies seront abordées avec une première partie qui contient des généralités sur la physiologie plaquettaire et les mécanismes des thrombopénies .

Dans une seconde partie ,nous détaillerons le diagnostic biologique et étiologique .

En fin, la dernière partie sera réservée à la prise en charge et aux traitements des différents types de thrombopénies .

CHAPITRE I : **GÉNÉRALITÉS**

1. Définition :

La thrombopénie est une anomalie très fréquente avec des étiologies variées [5].

Elle est définie par un chiffre de plaquettes inférieur à $150 \times 10^9 /L$ ($150\,000/mm^3$) [2] et inférieur à $120 \times 10^9 /L$ ($120\,000/mm^3$) selon pr O .Chafa, et elle doit toujours être vérifiée par l'observation optique d'un frottis sanguin pour confirmer la rareté en plaquettes et l'absence d'agrégats ou d'agglutinats leuco- plaquettaires [5].

Elle peut être d'origine centrale par défaut de production médullaire, ou d'origine périphérique cette dernière peut être la conséquence d'une consommation exagérée, d'une anomalie de la répartition, ou d'un mécanisme immunologique .

Il est habituellement facile de connaître son mécanisme grâce au contexte clinique et aux résultats des examens biologiques standards et du myélogramme obtenu par ponction de la moelle sternale .

Les modalités thérapeutiques et l'urgence de leur mise en œuvre sont conditionnées par le mécanisme de la thrombopénie et la gravité du syndrome hémorragique [6].

2. Epidémiologie :

Les études spécifiques sur l'épidémiologie des Thrombopénies sont peu nombreuses, il s'agit généralement d'études de cohorte descriptives, le plus souvent prospectives [8,9,10,11].

La comparaison entre ces études est presque impossible compte tenu de l'hétérogénéité des populations étudiées, de la diversité des critères diagnostiques, et des éléments analysés.

La fréquence des Thrombopénies dans les études diffère en fonction du taux de thrombopénie et de leur étiologies .

Chez les patients aux urgences, au seuil diagnostique de 150 G/L une Thrombopénie est observée chez 41,3 à 66,3% des patients [8,9], au seuil de 100 G/L, chez 23,7 et 35,4% des patients [7,8], et au seuil de 50 G/L chez moins de 10% des patients [9].

Chez les patients thrombopéniques avec un taux des plaquettes < 150 G/L, la Thrombopénie est observée dès l'admission dans 51,2 à 65,4% des cas [8].

L'incidence de la Thrombopénie acquise est de 26,9 à 44,1% au seuil diagnostique de 150 G/L, [8,15], de 12,9 et 21,4% au seuil de 100 G/L [8,15,16] et entre 3,5% et 8,3% au seuil de 50 G/L [9,15].

Ainsi, la Thrombopénie est le désordre hémostatique le plus souvent rencontré, son incidence est extrêmement variable, elle est présente dès l'admission chez environ la moitié des patients thrombopéniques .

La plus haute incidence de Thrombopénie est observée chez les patients en sepsis sévère et en choc septique [8,11,12,13].

L'incidence de la Thrombopénie est plus élevée chez les polytraumatisés ou chez les patients dans des services chirurgicaux par rapport aux patients dans des services médicaux [7,14].

CHAPITRE II : **RAPPEL PHYSIOLOGIQUE**

1. Production des plaquettes :

1.1. Mégacaryopoïèse :

Les plaquettes ont une durée de vie courte (autour de 7 jours), leur nombre reste relativement constant dans le sang d'un même individu, témoignant d'une production constante et finement régulée. Le processus qui aboutit à la production des plaquettes est appelé mégacaryopoïèse et représente une des branches de l'hématopoïèse [17]. La mégacaryopoïèse correspond à la différenciation des cellules souches hématopoïétiques (CSH) en mégacaryocytes qui sont les acteurs de la production plaquettaire [18]. Les mégacaryocytes sont localisés principalement dans la moelle osseuse. Ils sont parfois regroupés en petits amas faits d'éléments de tailles différentes et d'étapes de maturation diverses. Ils sont généralement localisés près d'un sinusoiide vasculaire . Ceci est important car mégacaryocytes et cellules endothéliales peuvent communiquer par plusieurs mécanismes potentiels: le mégacaryocytes contiennent des facteurs mitogéniques pour les cellules endothéliales (vascularendothelial growth factor : VEGF) tandis que les cellules endothéliales expriment des récepteurs et des molécules d'adhésion qui peuvent potentiellement retenir les mégacaryocytes près du flux sanguin où les futures plaquettes sont relarguées . Leur accumulation parasinusoïdale représente un mécanisme potentiel de libération des plaquettes par proximité [18]. On distingue, par la suite, les différentes étapes de mégacaryopoïèse :

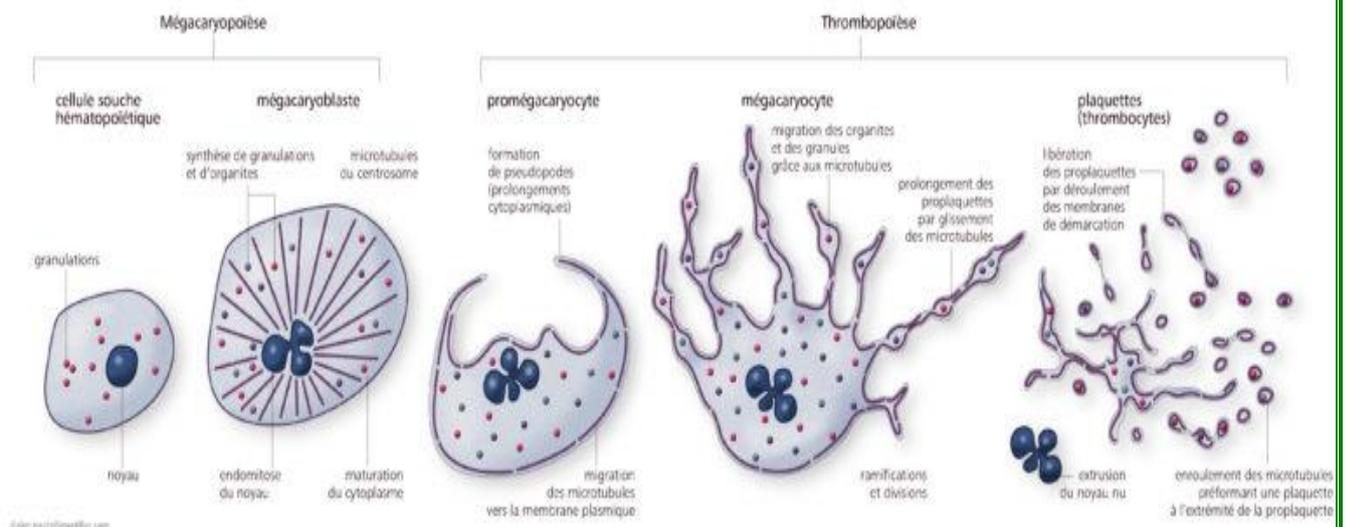


Figure 1 : schéma resume les étapes de production plaquettaire [A]

1) Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) :

Les progéniteurs mégacaryocytaires sont issus des CSH pluripotentes, capables à la fois de s'autoreproduire et de se différencier en progéniteurs des lignées hématopoïétiques. Les CSH sont des cellules à longue durée de vie, pluripotentes et de ce fait capables de régénérer tous les types de tissus hématopoïétiques par leur capacité d'autorenouvellement. Quand les CSH s'engagent dans la différenciation mégacaryocytaire, elles perdent en même temps leur

capacité d'autorenouvellement et leur propriété multipotente. Les CSH engagées sont alors appelées progéniteurs hématopoïétiques.

2) Les progéniteurs engagés :

Les progéniteurs mégacaryocytaires sont des cellules non reconnaissables morphologiquement [19], ils sont cités par la suite selon leurs ordre de différenciation :

➤ BFU-E/MK

Les progéniteurs myéloïdes communs s'engagent par la suite vers les lignages spécifiques. Cependant, les lignées érythroïdes et mégacaryocytaires dérivent d'un progéniteur bipotent appelé burst forming unit-erythroid and megakaryocyte (BFU-E/MK) qui s'engage par la suite vers une seule lignée la BFU-MK.

➤ BFU-MK

Ces cellules sont les progéniteurs les plus primitifs de la lignée mégacaryocytaire. Elles sont uniquement engagées vers le lignage mégacaryocytaire. Elles donnent des colonies composées de plus de 50 cellules organisées en plusieurs sous-colonies [19]. Après leur multiplication, les forming unit- megakaryocyte (BFU-MK) donnent des progéniteurs immatures appelés colony forming unit-megakaryocyte (CFU-MK).

➤ CFU-MK

Ces cellules diffèrent des précédentes par leur capacité proliférative moindre. Ainsi, après arrêt de la prolifération, les progéniteurs CFU-MK se différencient en promégacaryoblastes.

➤ Promégacaryoblastes

Les promégacaryoblastes sont des cellules transitionnelles. A ce stade, la synthèse de l'ADN se poursuit mais il y a perte du potentiel prolifératif. Ce sont de petites cellules rondes de 15 à 50 µm de diamètre, et encore mononucléées (ploïdie de 2 à 4N). Ces cellules, qui représentent 5 à 10 % des cellules de la lignée mégacaryocytaire de la moelle osseuse, ne sont pas encore différenciables des autres progéniteurs [19] Après ce stade, on entre dans le siège des endomitoses conduisant aux mégacaryoblastes.

L'endomitose est une particularité singulière de la lignée mégacaryocytaire. Elle correspond à une réplication de l'acide désoxyribonucléique (ADN) sans division cytoplasmique (mitose incomplète). Ce phénomène commence au stade des promégacaryoblastes mais, se produit essentiellement au stade des mégacaryoblastes. Ces mégacaryoblastes subissent donc une succession d'endoduplications ou endomitoses conduisant à un noyau d'une teneur en ADN équivalente à 2, 4, 8, 16, ou même 32 ou 64 fois celle des cellules haploïdes germinales. La maturation nucléaire se fait en parallèle avec la maturation cytoplasmique [22]. La maturation cytoplasmique du mégacaryocyte a pour objectif la formation d'un grand nombre de plaquettes, pouvant aller jusqu'à plusieurs milliers par cellule. La formation des organelles dans la cellule-mère est donc orientée vers le développement fonctionnel adéquat des cellules-filles [18]. La phase d'endoduplication de l'ADN des mégacaryocytes se caractérise, sur le plan morphologique, par une condensation progressive de la chromatine du noyau, une augmentation de la taille nucléaire, un rapport nucléocytoplasmique qui reste élevé comme dans toute cellule immature et un cytoplasme basophile, riche en ribosomes et dépourvu de granulations [20].

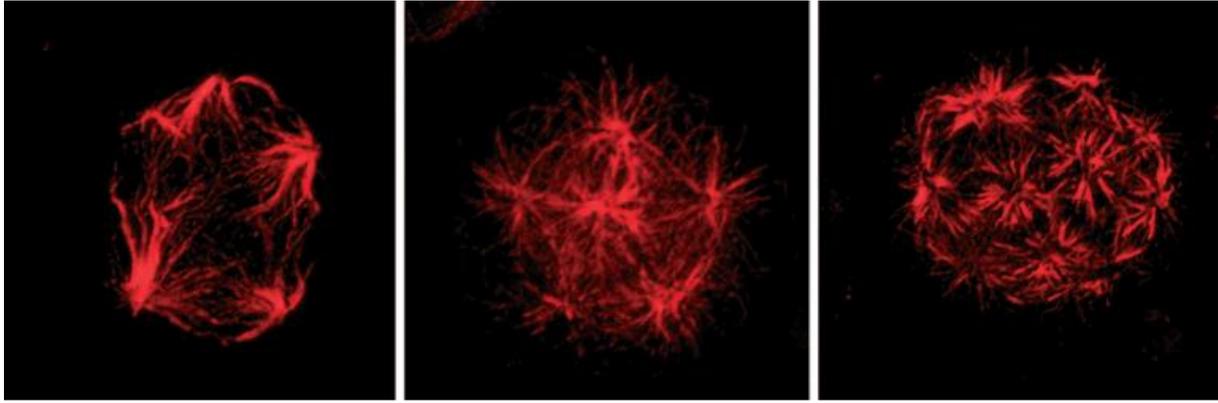


Figure 2 : Image illustrant la détection en immunofluorescence de la tubuline du fuseau mitotique des endomitoses mégacaryocytaires [B].

3) Les précurseurs :

Les mégacaryoblastes deviennent morphologiquement identifiables du fait de leur augmentation de taille, c'est un compartiment de maturation. Ainsi, les mégacaryocytes sont classés en plusieurs stades de maturation [19].

➤ Mégacaryoblaste (stade I)

Le mégacaryoblaste est issu du promégacaryoblaste. C'est une cellule de 20 à 30 μm avec un noyau plurilobé (ploïdie de 2 à 8N). C'est la première cellule identifiable morphologiquement. Elle est caractérisée par sa taille augmentée, en rapport avec l'hyperploïdie. À ce stade débute l'expression de diverses protéines importantes, pour la plupart spécifique de cette lignée : les glycoprotéines (GP) IIIa, GPIb, le facteur Von Willebrand (FVW), le platelet factor 4 (PF4), le complexe membranaire GPIIb-IIIa ou cluster de différenciation 41/61 (CD 41/61) et la GPIb (CD42b). C'est encore à ce stade que débute la biogenèse des granules α , en plus du processus d'endomitose préalablement défini [18].

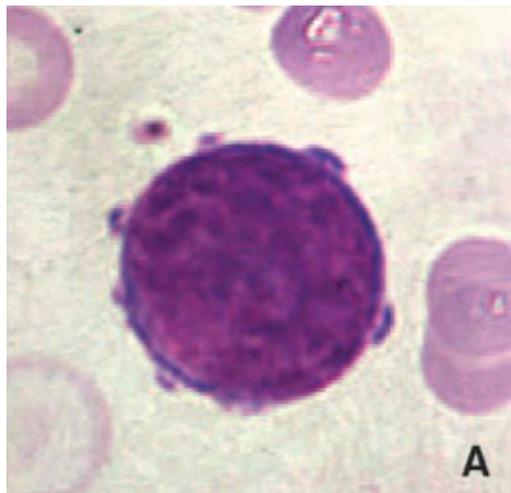


Figure 3 : Le mégacaryoblaste (stade I) de la moelle colorée au May-Grünwald-Giemsa [C].

➤ Mégacaryocyte basophile (stade II)

Le mégacaryocyte basophile correspondant au stade où la ploïdie est maximale et où cesse la synthèse d'ADN, son noyau commence à se lobuler. La taille de son cytoplasme augmente, il devient basophile en coloration par le May-Grünwald-Giemsa (MGG) et quelques granulations apparaissent. Le rapport nucléocytoplasmique diminue. La taille de la cellule est de 40 à 80 μm de diamètre.

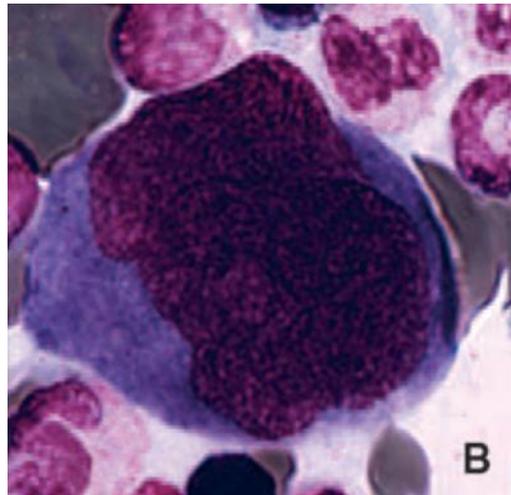


Figure 4 : mégacaryocyte basophile (stade II) de la moelle colorée au MGG [C].

➤ Mégacaryocyte granuleux (stade III)

Le mégacaryocyte basophile devient granuleux ; les organites des futures plaquettes et le système de membrane de démarcation s'installent : la cellule grossit (50 à 100 μm de diamètre), le cytoplasme devient azurophile (présence de nombreuses granulations), il contient 3 types de granules : Alpha, denses et lysosomes

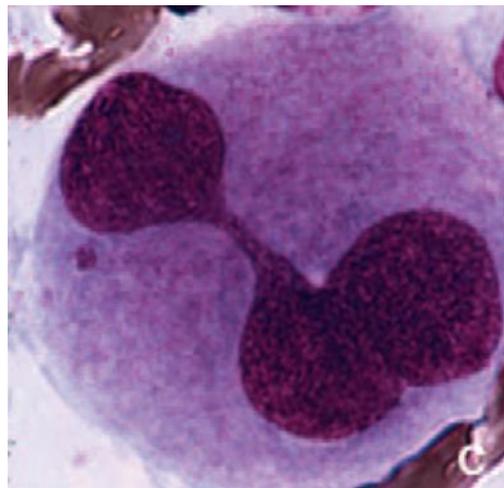


Figure 5 : Le mégacaryocyte granuleux (stade III) de la moelle colorée au MGG [C].

➤ Mégacaryocyte mature (stade IV)

Enfin, dans le mégacaryocyte mature ou plaquettogène débute la formation des plaquettes : les granules se regroupent et le système de membrane de démarcation s'organise et s'aligne pour donner naissance aux futures plaquettes. À ce stade, le mégacaryocyte a une taille qui varie entre 50 et 120 μm . la membrane de démarcation s'invagine et se développe considérablement s'étendant sur la totalité du cytoplasme, de façon à créer un réseau complexe de membranes, ce système est très développé et joue un rôle essentiel, puisqu'il participe directement à la production de plaquettes [19].

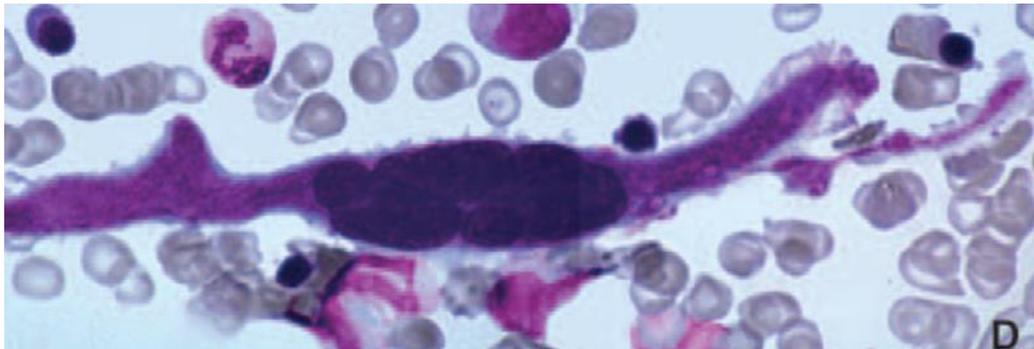


Figure 6 : Le mégacaryocyte mature (stade VI) de la moelle colorée au MGG [C].

1.2 Plaquettonèse :

Elle correspond à la formation et à la libération des plaquettes à partir de la fragmentation du mégacaryocyte mature. Chaque mégacaryocyte donne naissance à plusieurs centaines de plaquettes.

Le lieu de formation des thrombocytes reste objet de controverse : pour les uns, il s'agirait de la moelle osseuse et pour les autres, ce serait après le passage des cellules mégacaryocytaires dans la circulation pulmonaire.

Toutefois, le mégacaryocyte, à ce stade, par son système de démarcation très développé, joue un rôle essentiel dans la production des plaquettes par la formation d'extensions appelées proplaquettes. Celle-ci débute par une genèse microtubulaire au niveau du corps cellulaire. Ces microtubules en glissant les uns le long des autres permettent l'élongation des bras de cytoplasme. De leur côté, l'actine et la myosine interviennent dans la formation des renflements qui correspondent aux futures plaquettes. La fusion de vacuoles présentes de chaque côté de ces constriction permettra la fragmentation des proplaquettes et la libération des plaquettes.

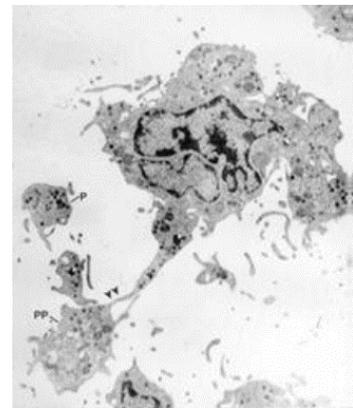


Figure 7 : Image illustrant l'aspect en microscopie électronique d'un mégacaryocyte mature en cours de libération de plaquettes [B].

L'utilisation de radioélément comme le chrome 51 (^{51}Cr) a permis d'établir qu'environ les deux tiers des thrombocytes se trouvent dans la circulation et le tiers restant dans la rate. Le pool splénique constitue une réserve de plaquettes moins matures que les plaquettes circulantes. Ces dernières atteignent un taux de 150 à 400 G/L dans la circulation sanguine normale. Leur durée de vie est de l'ordre de 8 à 10 jours [18].

1.3. Régulation de la mégacaryopoïèse

1.3.1. Régulation humorale : extrinsèque :

Le développement des mégacaryocytes et la formation des plaquettes sont sous la dépendance de nombreuses cytokines, dont la principale est la thrombopoïétine (TPO). Le taux de TPO circulante est essentiellement régulé en feedback par le taux de plaquettes circulantes. En exprimant à leur surface le récepteur de la TPO, le Mpl-R, les plaquettes sont capables de faire baisser le taux de TPO. Ceci est possible, grâce à la capacité de clairance dont dispose les thrombocytes vis-à-vis de cette cytokine. À l'inverse, si le taux des plaquettes baisse, celles-ci n'assurent plus la clairance de la TPO et le taux de cette dernière augmente. Toutefois, d'autres paramètres qui rendent plus complexe la compréhension de la régulation interviennent. Les mégacaryocytes médullaires expriment également le Mpl-R et participent à la régulation du taux de TPO.

Les autres cytokines qui fonctionnent avec la TPO et ont ainsi une action positive sur la mégacaryopoïèse sont l'interleukine 3 (IL 3), l'IL6, l'IL11, le stem cell factor (SCF), l'érythropoïétine (EPO), le granulocyte, makrophage-colony stimulating factor (GM-CSF), le granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), l'oncostatine M, le leukemia inhibiting facteur (LIF) et le c-kit ligand . Certains de ces facteurs ont une activité qui n'a été démontrée qu'in vitro sur des cultures cellulaires et n'ont pas de potentiel thérapeutique in vivo (G-CSF, GM-CSF). D'autres peuvent potentialiser l'action de la TPO [18].

Une régulation négative de la mégacaryopoïèse a été mise en évidence in vitro. Elle s'exerce par le biais de plusieurs lymphokines ou monokines comme les interférons (IFN) α et γ , le tumor necrosis factor (TNF). Plus intéressante est peut-être la démonstration d'une régulation négative autocrine qui met en jeu des composants des granules α mégacaryocytaires. Ainsi le transforming growth factor β (TGF- β) inhibe la mégacaryopoïèse chez l'homme, mais de façon non sélective. L'inhibition par le PF4 ou par la β thromboglobuline (β TG) prédomine sur la lignée mégacaryocytaire [20].

Le microenvironnement médullaire exerce aussi une action sur la mégacaryopoïèse. Ainsi, les cellules endothéliales sécrètent des cytokines et présentent des molécules d'adhésion favorisant les échanges entre les divers types cellulaires. Les glycosaminoglycanes (GAG) interagissent avec le PF4 et lient certaines cytokines (IL1, IL3, IL6, GM-CSF) [5].

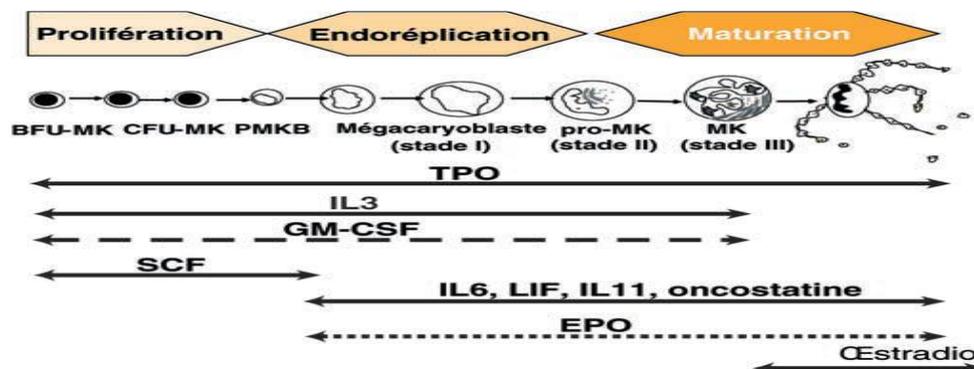


Figure 8 : Schéma récapitulatif de la régulation humorale de la mégacaryopoïèse [B].

1.3.2. Régulation moléculaire : intrinsèque

L'expression régulée des différents gènes nécessaires à la différenciation de la lignée mégacaryocytaire est rendue possible par l'action ciblée de complexes faisant intervenir des facteurs de transcription spécifiques de la lignée ou ubiquitaires.

Le facteur runt-related transcription factor (RUNX 1) ou acute myeloid leukemia 1 (AML1) et les cofacteurs globin transcription factor (GATA-1) et friend of GATA-1 (FOG-1) sont impliqués dans l'engagement mégacaryocytaire du progéniteur bipotent érythro-mégacaryocytaire. Le couple GATA-1/FOG-1 est impliqué dans des étapes de maturations cytoplasmiques plus tardives [21].

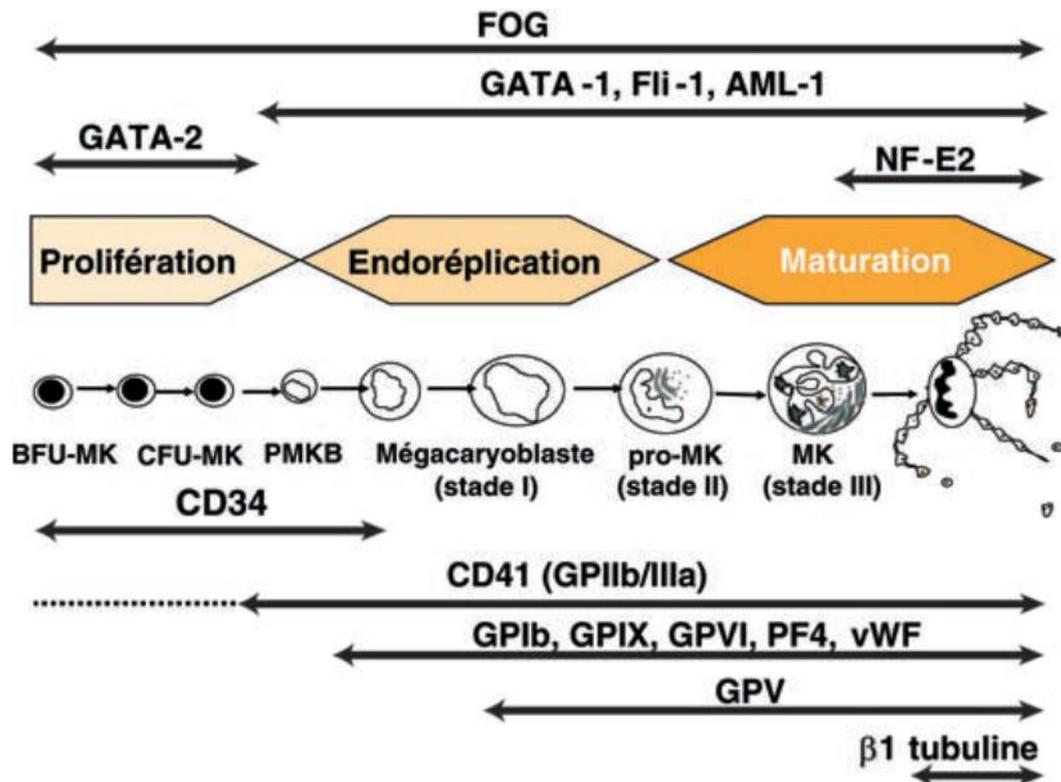


Figure 9 : Schéma récapitulatif de la régulation moléculaire de la mégacaryopoïèse [B].

2. Mort physiologique des plaquettes :

La majorité des plaquettes meurent par sénescence, une minorité environ 20% est détruite au hasard : la plupart de ces dernières seraient consommées sur l'endothélium ou l'intima, où elles contribuent grandement au maintien et à la restauration de l'intégrité vasculaire. Le cimetière naturel des plaquettes est constitué par les phagocytes mononucléés du système histiocytaire : ils éliminent les plaquettes sénescentes. La rate est l'organe principal de destruction physiologique des thrombocytes, le foie et la moelle osseuse ont une fonction complémentaire [18].

3. Morphologie des plaquettes :

Les thrombocytes résultant de la plaquettopoïèse présentent un certain nombre de caractéristiques morphologiques appréciées en microscopie.

3.1. Plaquettes sous microscope optique :

Elles se présentent sous la forme d'éléments arrondis de petite taille, de 1 à 2 μm de diamètre, à contours irréguliers, de coloration gris clair, parsemés de fines granulations rosées . leur volume varie entre 5 et 19 μm^3 . On distingue sur les frottis colorés au May-Grünwald Giemsa (MGG) deux zones distinctes, l'une centrale : le chromomère et l'autre périphérique : le hyalomère. La présence de quelques plaquettes de taille plus grande (7 μm de diamètre) n'est pas exceptionnelle, celles-ci correspondent à de jeunes plaquettes. L'observation des plaquettes au microscope, confrontée au taux des plaquettes et au volume plaquettaire moyen (VMP) [20,23].

3.2. En microscopie électronique :

Elle permet de retrouver différents éléments. D'abord la membrane, elle a une épaisseur de 70 à 90 Å est riche en protéines plasmiques absorbées. Par la suite, des systèmes canaliculaires étroitement associés à la membrane cytoplasmique sont individualisés en deux entités : le système canaliculaire connecté à la surface (SCCS) et le système tubulaire dense (STD). Ensuite, à l'intérieur du cytoplasme, on distingue plusieurs types d'organelles : les granules denses dont le nombre varie de 3 à 12 par plaquette, les granules α qui sont environ cent fois plus nombreux que les granules denses, les lysosomes et les microperoxydases. A la périphérie de la cellule, se trouvent groupés les microtubules et les microfibrilles . Enfin, on observe que le réticulum lisse ou granuleux et les ribosomes sont peu abondants et que les grains de glycogène sont souvent groupés en amas [20].

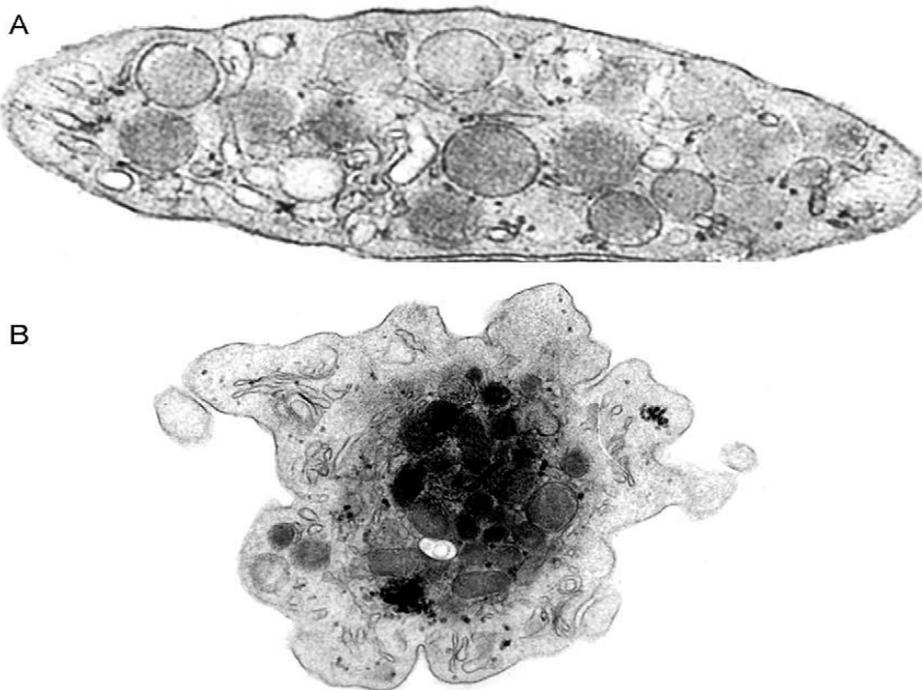


Figure 10 : En (A) une photo de plaquette non activée en microscopie électronique, on peut noter la forme discoïde de la plaquette et un contenu très riche en granules ; en (B) les plaquettes ont été activées par l'ADP. On note l'émission de pseudopodes et la centralisation des granules [D].

3.3. La biochimie plaquettaire :

Les constituants biochimiques des plaquettes sont les véritables éléments à la base des propriétés physiologiques plaquettaires.

3.3.1. Glycocalix :

C'est un revêtement de surface situé à l'extérieur de la membrane. C'est une couche irrégulière et floue dont l'épaisseur varie de 10 à 50 nm [24]. Le glycocalix est constitué de glycosaminoglycanes (GAG) . C'est le premier site d'interaction des plaquettes avec l'environnement extérieur. Ainsi, face aux GAG endothéliaux, les plaquettes sont repoussées à distance endoluminale de la paroi vasculaire, avec une charge positive [17].

3.3.2. Membrane plaquettaire :

La membrane plaquettaire comporte une couche de lipides neutres ou polaires dans laquelle peuvent se mouvoir des GP ou d'autres protéines suffisamment hydrophobes pour former des associations lipidoprotidiques [26]. La composition biochimique cette membrane est la suivante :

3.3.2.1. Les systèmes membranaires

Comme déjà énoncé, nous avons le système canaliculaire connecté à la surface SCCS ou système canaliculaire ouvert qui est formé grâce aux invaginations de la membrane thrombocytaire reliées à la surface [27]. Il participe à la libération des substances granulaires vers le milieu extracellulaire au cours du processus sécrétoire. Le système tubulaire dense (STD) qui dérive du réticulum endoplasmique lisse mégacaryocytaire est le siège de formation du thromboxane A2 (TxA2), le lieu de stockage du calcium ionisé (Ca²⁺) et le siège de la synthèse des prostaglandines (PG) [25].

Outre les systèmes de la membrane, les lipides et les protéines représentent respectivement 15% et 60% .

3.3.2.2. Les lipides

Ils sont représentés par 78% de phospholipides qui sont distribués de façon asymétrique dans la double couche membranaire. Sur la plaquette au repos, la sphingomyéline est présente dans le feuillet externe et la phosphatidylsérine, le phosphatidylinositol et la phosphatidyléthanolamine dans le feuillet interne [20]. Ces deux derniers phospholipides sont respectivement hydrolysés par les phospholipases C (PL C) et A2 (PL A2) qui interviennent dans le métabolisme des PG. Pour finir, la phosphatidylcholine est répartie entre les deux feuillets membranaires [25]. Le maintien de cette asymétrie est assuré par une protéine particulière : l'aminophospholipide translocase ou scramblase. Ainsi, par le biais de ses phospholipides, la membrane plaquettaire est la source majeure d'acide arachidonique et la celle de platelet factor 3 (PF3) dont l'activité semble être supportée essentiellement par la phosphatidylsérine. En dehors des phospholipides, il existe des céramides, des glycolipides neutres et acides ou des gangliosides [20].

3.3.2.3. Les récepteur :

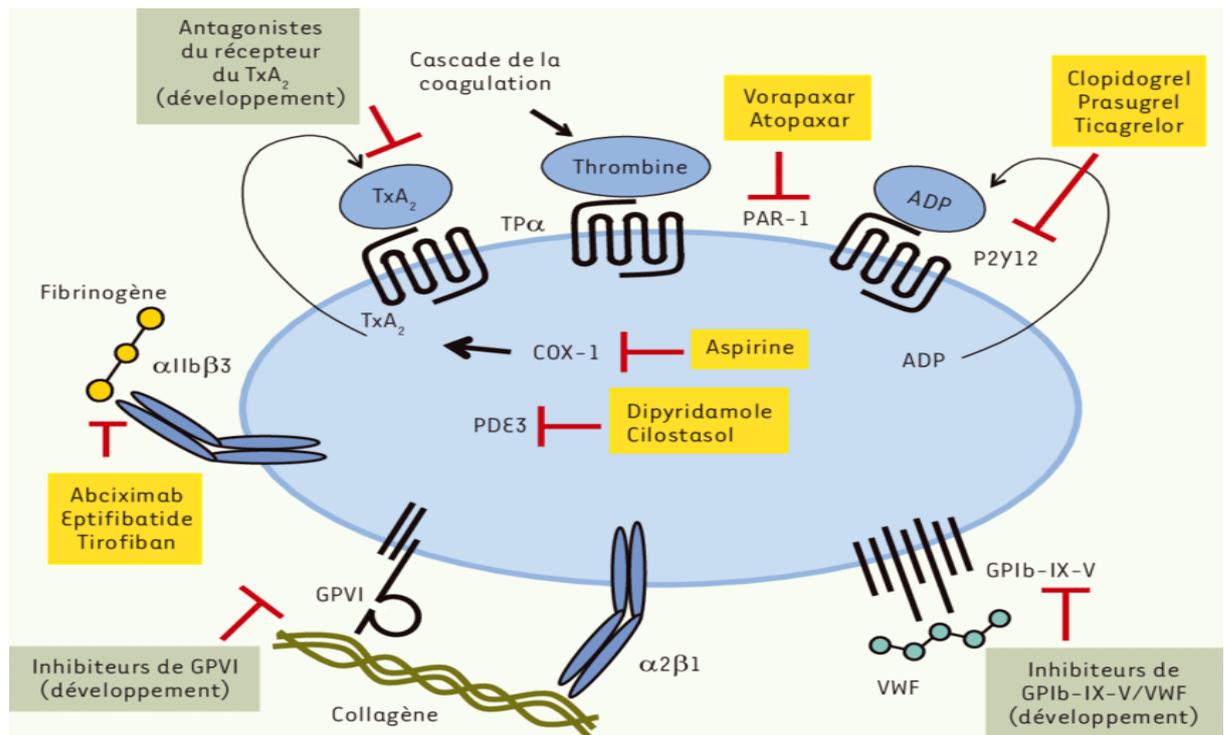


Figure 11 : schéma des récepteurs membranaires de la plaquette et ses ligands [D].

- le complexe GPIb-V-IX : la GPIb (CD42b) interagit avec la GPIIX et la GPV. Il est un constituant majeur de la membrane plaquettaire avec environ 25 000 complexes par plaquette. La GPIb se lie au facteur VWF lié au sous-endothélium et cette interaction dépendante des conditions rhéologiques est favorisée dans les artères de petit calibre ou sténosées. La liaison GPIb-VWF permet un ralentissement des plaquettes à la surface vasculaire et initie des signaux d'activation. La GPIb est aussi un récepteur accessoire de la thrombine alors que la GPV est un substrat de la thrombine.

La GPIb est connectée au cytosquelette ce qui joue un rôle important dans la taille et la forme des plaquettes.

Un déficit constitutif du complexe (syndrome de Bernard-Soulier) se caractérise par une thrombopénie, des plaquettes géantes et un syndrome hémorragique souvent sévère résultant à la fois de la thrombopénie et du défaut d'adhésion des plaquettes. GPIb porte l'allo-Ag HPA-2.

- GPVI : la GPVI appartient à la superfamille des immunorécepteurs ; elle est couplée à la chaîne gamma commune aux récepteurs des immunoglobulines (FcRγ) et environ 4000 complexes sont exprimés par plaquette ; GPVI est le principal récepteur d'activation des plaquettes par les collagènes de type I et III qui sont les molécules les plus thrombogènes du sous-endothélium sain et de la plaque d'athérosclérose. En raison de son rôle dans l'activation des plaquettes par la plaque d'athérosclérose et son implication croissante dans l'inflammation.
- GPIIb/IIIa est également un récepteur du collagène qui collabore avec GPVI pour optimiser l'activation des plaquettes. GPIIb/IIIa porte l'allo-Ag HPA-5.

- Récepteurs P2Y1 et P2Y12 ; sensibles à l'ADP, le premier est responsable du changement de configuration de la plaquette (activation de la protéine Gq et libération de Ca²⁺), le deuxième de l'amplification de l'agrégation induite par le récepteur GP Ib /V /IX, la TXA₂, la thrombine et la sérotonine.
- Récepteurs PAR1 et PAR4 pour la thrombine ; celle-ci stimule les plaquettes à une concentration beaucoup plus faible que celle nécessaire à déclencher la cascade de la coagulation ; toute fois, sa capacité à cliver le fibrinogène en fibrine est plus importante pour l'hémostase que son effet sur les plaquettes.

PAR1 et 4 sont couplés aux protéines G hétérotrimériques qui activent à la mobilisation du Ca²⁺.

- le récepteur du thromboxane A₂ (TP α) est également couplé à la protéine Gq et G12/1 et joue un rôle important dans l'amplification de l'activation des plaquettes par le TXA₂ .
- Les GPIIb IIIa est majoritaire à la surface plaquettaire avec ~50 000 copies par plaquettes, auxquelles s'ajoutent environ 30 000 copies contenues dans les granules alpha, est dans une conformation inaccessible sur les plaquettes au repos et qu'ils sont externalisées lors de l'activation plaquettaire et lui permet de lier le fibrinogène de manière dépendante du Ca²⁺. Ce complexe est le récepteur du fibrinogène dont la liaison va ponter les plaquettes entre elles et conduire à leur agrégation.

Outre le fibrinogène, GPIIb IIIa reconnaît diverses protéines présentant un motif RGD (arginine, glycine, aspartique) comme le VWF et la fibronectine.

Les déficits quantitatifs et/ou qualitatifs en GPIIb IIIa (thrombasthénie de Glanzmann) s'accompagnent d'une anomalie majeure d'agrégation plaquettaire et se manifestent par un syndrome hémorragique qui peut être très sévère

- Fc_{RIIA} : récepteurs expriment une basse affinité pour les IgG . Ce récepteur appartient à la superfamille des immunorécepteurs et partage avec la GPVI le même mécanisme de signalisation. est impliqué dans la thrombopénie à l'héparine, la fixation des complexes immuns déclenchant l'activation des plaquettes.
- La membrane des granules alpha contient de nombreuses molécules : intégrine α II β 3, CD62P (P-sélectine). Ces protéines sont externalisées à la membrane externe de la plaquette lors de l'activation. Ainsi la mise en évidence de CD62P en surface est un bon témoin de l'activation plaquettaire et a un rôle proinflammatoire [4].

glycoprotéine	Ligand	Autre dénominations
GP Ib-IX-V	VWF (thrombine)	CD42a, b, c
GP IIb-IIIa	Fibrinogène (VWF)	Intégrine IIb3 (CD41 + CD61 = CD41b)
Intégrine 21	Collagène	GPIa-IIa CD49b
Intégrine 51	Fibronectine	CD49e
Intégrine 61	Laminine	CD49f
GP VI	Collagène	Récepteur à ITAM
GP IV	Thrombospondine	CD36
PAR-1	Thrombine	GPCR
PAR-4	Thrombine	GPCR
P2Y1 P2Y12	ADP	GPCR
P2X1	ATP	Canal calcique
TP	Thromboxane A2	GPCR
FcRIIA	IgG	CD32A récepteur à ITAM
CLEC-2	Podoplanine	Récepteur à ITAM
PECAM	PECAM	CD31 récepteur à ITIM
G6Bb		Récepteur à ITI

Tableau 1 : Principales protéines de la membrane plaquettaire[D].

GPCR : récepteur couplés à la prot. G.

3.3.2.4. Le cytoplasme

Faisant suite à la membrane et à ses constituants, il y a le cytoplasme qui en plus d'être constitué d'un cytosquelette comprend différents types d'organelles.

- Le cytosquelette

Il est majoritairement constitué de filaments d'actomyosine (actine et myosine) et d'un anneau périphérique de microtubules qui assurent la forme discoïdale des plaquettes au repos. La stimulation par un agoniste induit une polymérisation d'actine et une réorganisation de ce cytosquelette. Morphologiquement, la plaquette activée perd sa forme discoïde pour adopter une forme sphérique avec projection de pseudopodes. En plus de son rôle de charpente cellulaire, le cytosquelette se révèle être un lieu essentiel pour la relocalisation de nombreux complexes protéiques de la signalisation [27].

- Les granules denses qui sont de 3 à 12 par plaquette avec un diamètre inférieur à 0,2 µm. Ils présentent en leur centre, sous un volume variable, un coeur très dense en microscopie électronique (d'où leur dénomination). Ils contiennent le pool des nucléotides adénosine diphosphate (ADP) et adénosine triphosphate (ATP). Les granules denses sont aussi le lieu de stockage de la sérotonine à une concentration de 65nmol/L. Enfin, ils contiennent 70% de cations bivalents essentiellement du Ca²⁺ (responsable de la densité en microscopie électronique). Par ailleurs, les granules denses sont riches en lysolécithine et en ganglioside. Ils contiennent au niveau de leur

membrane de petites protéines G : Ral et Rab 27 ainsi que de la granulophysine et d'autres récepteurs : CD 63, LAMP 2, la tyrosine kinase Src, les GPIb, GPIIb-IIIa.

- Les granules α ont une taille en moyenne deux fois supérieure à celle des granules denses (0,2 à 0,4 μ m). Ils sont plus nombreux. Il en existe environ une centaine par plaquette. Par le biais de la microscopie électronique, il est possible d'identifier une zone très dense d'aspect nucléoïde contenant les protéoglycanes et une matrice d'aspect moins dense. Cette dernière peut être subdivisée en trois régions : une zone adjacente à la zone nucléoïde, une zone intermédiaire souvent associée au marquage des protéines plasmatiques et une zone plus étroite périphérique caractérisée par la présence de structures tubulaires et de grosses protéines : le FVW, la multimérine, le facteur V. Les granules α contiennent aussi la β TG, le PF4 de même localisation que les protéoglycanes. Il y a également des protéines adhésives : le fibrinogène, la thrombospondine et la fibronectine. Les facteurs mitogéniques sont aussi présents : le platelet derived growth factor (PDGF), le TGF- β , de nombreux facteurs angiogéniques. Il a été identifié en plus, des protéases comme l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type I (PAI 1), l' α -protéase, l'inhibiteur du facteur tissulaire (TFPI), la protéase nexin 2 (forme tronquée du précurseur de la substance β -amyloïde). Le composant majeur de la membrane des granules α est la P-sélectine (GMP 140 ou CD 62). A la face interne, il existe aussi la GPIIb-IIIa, la GPIV, le CD9, l'ostéonectine, la protéine PECAM, les petites protéines G (Rap 1, Rab 4, Rab 6 et Rab 8) qui ont un rôle important dans le phénomène de sécrétion.
- Les lysosomes ont une taille intermédiaire entre les deux types de granules. Ils contiennent de la phosphatase acide, des glycosidases, des protéases, de la collagénase, de l'élastase, de la cathepsine G [30]. Leur membrane contient principalement la lysosomal integral membrane protein (LIMP) ou CD 63.
- Les microperoxyosomes sont des microgranules contenant de la catalase. Leur fonction précise est inconnue [19].
- Les mitochondries et les grains de glycogène constituent la source d'énergie principale des plaquettes via la phosphorylation oxydative et la glycolyse [25].

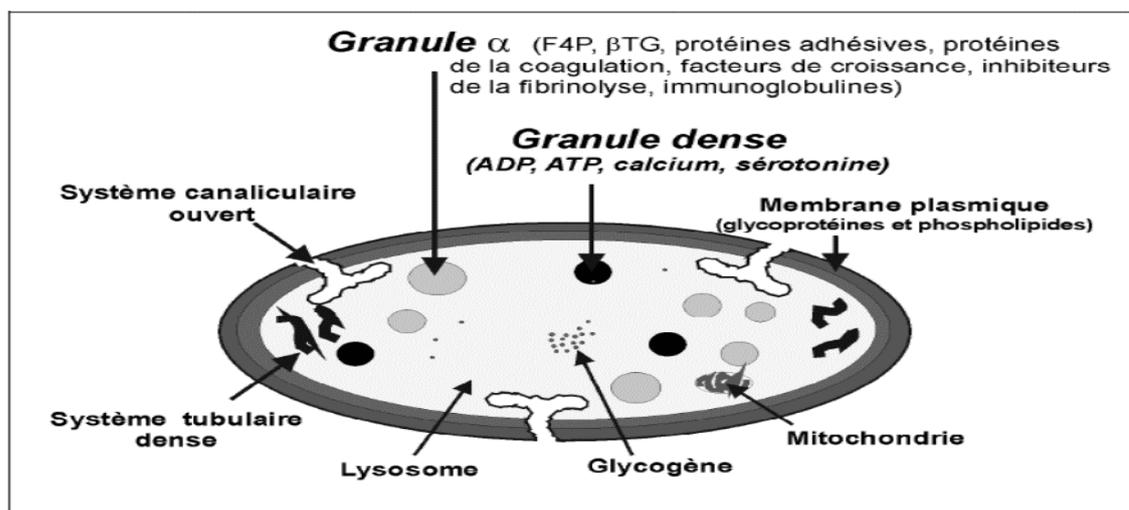


Figure 12 : structure schématique d'une plaquette [E]

4. Rôles et fonctions des plaquettes :

4.1. Rôle des plaquettes dans l'hémostase primaire :

On peut schématiser les grandes voies de l'activation des plaquettes en distinguant celles qui sont impliquées dans les phénomènes d'adhérence et d'activation au contact de la paroi vasculaire lésée et celles qui concourent à l'amplification des réponses et au recrutement de plaquettes circulantes par des médiateurs solubles libérés lors de l'activation .

En l'absence de brèche vasculaire, des voies inhibitrices maintiennent les plaquettes dans un état de repos dans la circulation sanguine. Ce sont essentiellement des récepteurs couplés à des protéines G comme les récepteurs de la prostacycline (PGI₂) ainsi que des immuno-récepteurs à motifs ITIM (*immuno-tyrosine based inhibition motifs*) (PECAM) qui régulent le niveau d'inhibition des plaquettes circulantes. La prostacycline, sécrétée par l'endothélium sain.

L'ensemble des voies activatrices convergent et assurent la complétude des réponses des plaquettes à l'ensemble des stimuli rencontrés au niveau de la brèche vasculaire et ceux formés et sécrétés lors des premières étapes pour activer efficacement [30].

4.1.1. Adhérence et activation plaquettaire

➤ Adhérence à la paroi vasculaire lésée :

Lors d'une brèche vasculaire, de nombreuses protéines du sous-endothélium ainsi que des couches plus profondes du vaisseau sont exposées au sang circulant parmi lesquelles le facteur de Willebrand (vWF), différents types de collagènes, la fibronectine, des laminines, qui chacune interagissent avec des glycoprotéines réceptrices de la membrane des plaquettes. Ces interactions sont régulées en fonction de l'hémodynamique locale et, dans des conditions de flux rapide où les forces de cisaillement à la paroi sont élevées, l'interaction initiale des plaquettes avec le substrat se fait par l'intermédiaire du vWF qui fait le pont entre le complexe glycoprotéique GPIb-V-IX des plaquettes et le collagène du sous-endothélium .

La fonction principale de liaison du vWF est portée par la sous-unité GPIb α au niveau de son extrémité N-terminale extracellulaire. La liaison du facteur Willebrand déclenche une signalisation intracellulaire qui entraîne des changements morphologiques des plaquettes avec émission de filopodes et l'activation de l'intégrine α I**II** β 3 pour favoriser l'étalement et l'adhérence à la paroi lésée.

Le complexe GPIb-V-IX participe également à l'activation des plaquettes par la thrombine via la sous-unité GPIb α qui possède un site de liaison pour la thrombine. cette étape favorise les interactions avec d'autres protéines de la paroi et d'autres récepteurs des plaquettes qui mèneront à leur adhérence stable, leur activation, la mise en route des mécanismes de sécrétion et le recrutement de plaquettes circulantes afin de former le clou hémostatique. Les principales protéines de la matrice sous-endothéliale impliquées dans l'adhérence stable sont le collagène, puissant activateur des plaquettes via deux récepteurs au-moins, la glycoprotéine VI, et l'intégrine α 2 β 1, la fibronectine, via l'intégrine α 5 β 1, les laminines via l'intégrine α 6 β 1 et le fibrinogène adsorbé à la paroi lésée, via l'intégrine α I**II** β 3 . Par ailleurs, le fibrinogène

soluble circulant est le ligand majeur de l'intégrine $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ nécessaire à l'agrégation des plaquettes entre elles [30].

➤ **L'activation par des agonistes solubles et leur récepteurs :**

De nombreux agonistes solubles sont susceptibles d'activer les plaquettes sanguines parmi lesquels les plus importants sont :

- Activation des plaquettes par l'ADP

L'ADP est contenu à très forte concentration dans les granules denses des plaquettes et sécrété lors de l'activation. Son rôle est à la fois de renforcer l'activation et de stabiliser le clou plaquettaire. Les plaquettes sanguines possèdent deux récepteurs à l'ADP, P2Y1 et P2Y12, le récepteur P2Y1 est couplé à la protéine Gq, responsable de l'activation des phospholipases C β et donc des protéines kinases C et de la mobilisation du calcium intracellulaire. Il est responsable des changements morphologiques induits par l'ADP.

Le récepteur P2Y12 est couplé à une protéine Gi2, responsable de l'inhibition de la formation d'AMP cyclique et, à ce titre, permissive de l'activation plaquettaire.

L'inhibition de l'activation par l'ADP ou l'absence d'ADP dans les granules (maladie du pool vide) se traduit par une réponse plaquettaire diminuée à toutes les formes de stimulation des plaquettes, que ce soit par la thrombine, le collagène, les immuns complexes.

Le rôle amplificateur des réponses plaquettaires est principalement porté par le récepteur P2Y12 tandis que le récepteur P2Y1 régule la réactivité des plaquettes en réponse à l'ADP en se désensibilisant transitoirement.

- La voie du thromboxane A2 Lors de l'activation des plaquettes, les phospholipides de la membrane plasmique sont mis à contribution de diverses façons pour produire des seconds messagers intracellulaires ainsi qu'un agoniste secondaire, le thromboxane A2 (TXA2). Le thromboxane A2, est un métabolite instable de l'acide arachidonique. L'acide arachidonique, clivé par la phospholipase A2 lors de l'activation des plaquettes est soumis à l'action de la cyclo-oxygénase qui forme des endoperoxydes substrats de la thromboxane synthétase. Le TXA2 est à la fois un activateur des plaquettes et un puissant vasoconstricteur. Il se lie avec les récepteurs TP, qui appartiennent à la classe des récepteurs des prostanoides. Ces récepteurs sont couplés à des protéines G de type Gq et G12/G13, responsables de la mobilisation du calcium intracellulaire et de l'activation de la GTPase RhoA responsable notamment des phénomènes contractiles des plaquettes.

- Activation des plaquettes par la thrombine

La thrombine est l'activateur le plus puissant des plaquettes sanguines. Là aussi, deux récepteurs couplés aux protéines G sont impliqués dans l'activation des plaquettes par la thrombine, les récepteurs PAR1 et PAR4, PAR signifiant « Protease Activated Receptor ». Le mode d'activation de ces récepteurs est très original puisque c'est la fonction protéolytique de la thrombine qui clive la portion extracellulaire du récepteur formant ainsi une nouvelle portion extracellulaire qui devient l'agoniste sélectif du

récepteur ainsi clivé. Le motif minimal du peptide activateur du récepteur PAR1 comporte six acides aminés. Le peptide SFLLRN de synthèse est couramment utilisé pour stimuler directement les récepteurs PAR1 sans qu'il soit nécessaire que le clivage ait eu lieu. Le motif d'activation de PAR4 est GYPGQV. Ces deux récepteurs sont couplés aux protéines Gq et G12/13. L'activation des plaquettes par la thrombine ou par les peptides activateurs des PARs induit la sécrétion du contenu granulaire et par voie de conséquence la stimulation de la voie Gi via l'activation du récepteur P2Y12. Ces deux récepteurs ne sont pas redondants.

les plaquettes changent alors de forme grâce au cytosquelette lié aux récepteurs membranaires via l'actin binding protein (ABP). Le passage de la forme discoïde à la forme sphérique et l'émission de pseudopodes associés à la centralisation des granules sont les éléments remarquables de cette étape. Les séquences de cette étape, étroitement dépendantes du Ca²⁺, ne sont pas encore toutes élucidées, mais elles aboutissent à la polymérisation des filaments d'actine autorisant un plus grand contact intercellulaire et une bonne rétraction du caillot [30].

4.1.2. la sécrétion :

la sécrétion granulaire correspond au relargage du contenu granulaire après centralisation des granules et à l'amplification potentielle de la réponse plaquettaire après la libération des nombreuses substances activatrices ou ligands. La sécrétion granulaire est importante car elle permet de recruter davantage de plaquettes et de consolider le clou plaquettaire. Il y a véritablement fusion de la membrane plasmique avec celle des granules et excrétion

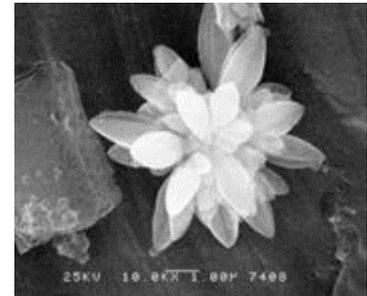


Figure 13 : Image illustrant la sécrétion plaquettaire [C].

du contenu granulaire dans le milieu péri-plaquettaire. L'amplification de la réponse cellulaire est essentiellement assurée par le TxA2 généré à partir de l'acide arachidonique endogène [29].

4.1.3. Agrégation plaquettaire :

L'agrégation des plaquettes correspond à l'établissement de ponts interplaquettaires

grâce au fibrinogène et à sa liaison aux complexes glycoprotéiques GPIIb/IIIa ($\alpha_2\beta_3$) externalisé à la surface plaquettaire après l'activation. Les sites GPIIb/IIIa sont liés aux différentes protéines du cytosquelette telles que la taline et la vinculine. Les sites $\alpha_2\beta_3$ après modification conformationnelle peuvent alors fixer le fibrinogène plasmatique et permettre la constitution des ponts interplaquettaires (agrégation réversible). La GPIV (CD36) liant la TSP, (thrombospondine) relarguée à partir du sous – endothélium et des granules α plaquettaires, accroît le contact

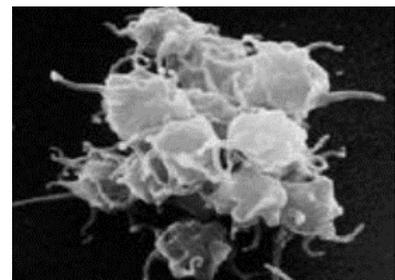


Figure 14 : Image illustrant la formation de l'agrégat plaquettaire [C].

inter-plaquettaire et consolide l'agrégat [29].

Ces mécanismes régulent les fonctions liées à l'ancrage et à l'étalement des plaquettes aux protéines de matrice de la paroi vasculaire lésée, la stabilité de l'agrégat plaquettaire et le phénomène de rétraction du caillot [30].

4.1.4. Le rôle procoagulant des plaquettes :

L'activation des plaquettes et la coagulation sanguines sont des phénomènes dynamiques intimement liés et organisés de sorte que la formation d'un clou hémostatique soit localisée au site de la brèche vasculaire. Les plaquettes, fortement stimulées par les premières traces de thrombine combinées au collagène de la paroi vasculaire lésée, subissent une transformation qui mène à une augmentation très importante de la concentration cytoplasmique du calcium et à la rupture de l'asymétrie de distribution des phospholipides de la membrane plasmique avec exposition de phospholipides négatifs ou anionique par « flip-flop », essentiellement la phosphatidylserine, à la surface des plaquettes. Ces phospholipides négatifs sont des cofacteurs nécessaires à la liaison des facteurs de la coagulation et à la formation des complexes tenase et prothrombinase . Ainsi, les plaquettes les plus activées, que l'on rencontre dans les couches les plus profondes de la paroi lésée sont-elles le siège de l'amplification de la génération de thrombine et le lieu de formation des premières fibres de fibrine qui ancrent le thrombus à la paroi et contribuent à sa stabilité . Le processus d'externalisation de la phosphatidylserine requiert une activité dite « *scramblase* » dont le substrat moléculaire a été identifié récemment. Il s'agit d'une protéine transmembranaire appelée TMEM16F qui forme un canal cationique activé par le calcium . Cette protéine est mutée chez des patients porteurs du syndrome de Scott, maladie hémorragique liée à ce défaut d'exposition de phosphatidylserine. Les mécanismes généraux de l'activation des plaquettes sont impliqués à des degrés variables dans l'exposition de phosphatidylserine. En particulier, l'intégrine $\alpha IIb\beta 3$ et le récepteur P2Y12 jouent un rôle important via l'activation de la tyrosine kinase Syk d'une part, et de la voie PI3K/Akt/rap1B d'autre part . Enfin, le complexe GPIb-V-IX contribue au rôle procoagulant des plaquettes par des mécanismes non encore tout à fait élucidés . Indépendamment de l'assemblage des facteurs vitamine K dépendants à leur surface, les plaquettes stimulées sécrètent d'importantes quantités de polyphosphates inorganiques contenus dans les granules denses. Ces polyphosphates sont des activateurs de la phase dite intrinsèque ou phase contact de la coagulation. Ils activent le Facteur XII, accélèrent l'activation des facteurs XI et V à la surface des plaquettes et, enfin, inhibent les effets anticoagulant de l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI). Cette voie d'activation de la coagulation semble plus importante dans les phénomènes thrombotiques que pour l'hémostase normale. Ces composés sont aussi au carrefour des interactions du système de l'hémostase avec l'inflammation et l'immunité antibactérienne[30] .

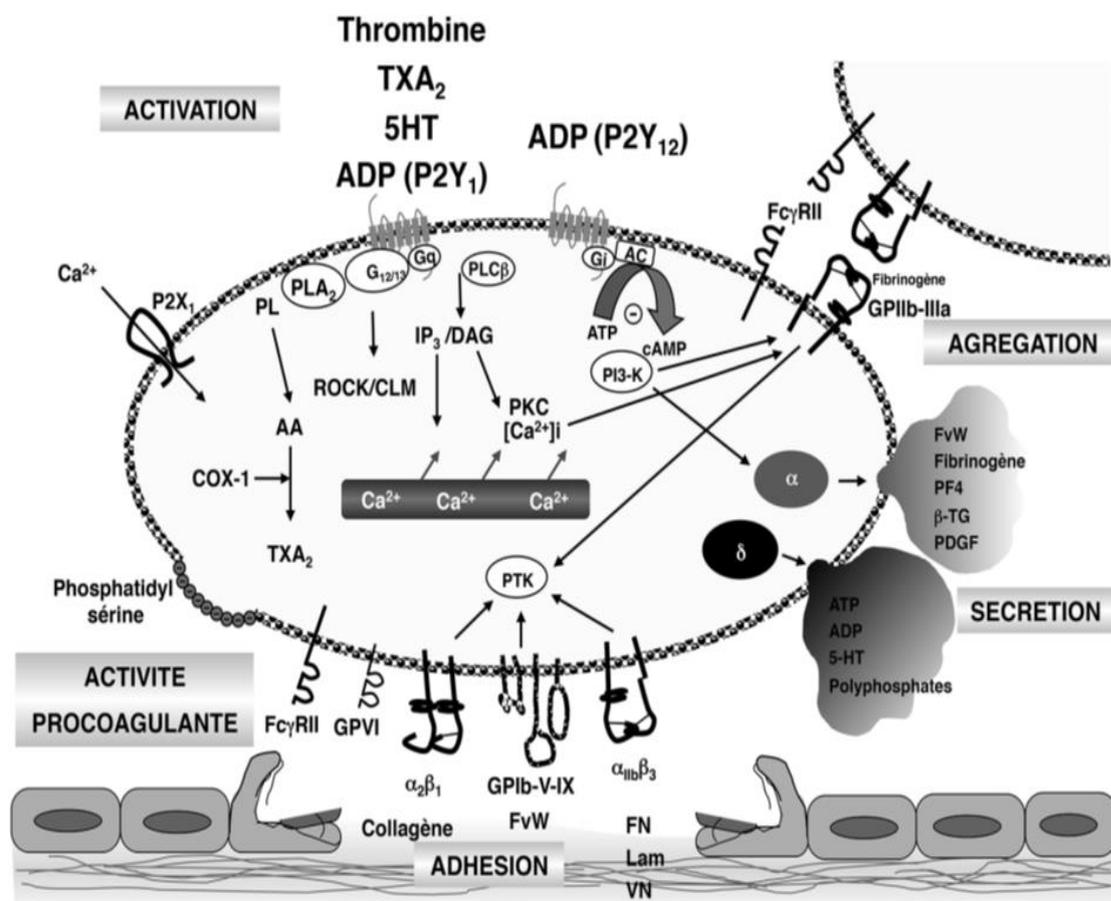


Figure 15 : schéma explique le mécanisme de la fonction plaquettaire dans l'hémostase primaire [F].

4.2. Plaquettes ,inflammation et immunité :

Les systèmes de l'hémostase, de l'inflammation et de l'immunité, à la fois innée et adaptative, sont intimement liés et l'on comprend de mieux en mieux leurs interactions. Les plaquettes activées exposent la P sélectine à la membrane ce qui leur permet de se lier aux polynucléaires neutrophiles, aux monocytes et aux cellules dendritiques . Par ailleurs, les plaquettes activées exposent du CD40L, puissant activateurs de nombre de réponses immunes et de l'endothélium vasculaire .

Elles sécrètent nombre de cytokines et de chémokines .Les plaquettes jouent ainsi des rôles variés dans les phénomènes de défense antibactérienne et antiparasitaire, dans l'inflammation, les septicémies, lors de phénomènes de détresse respiratoire ou d'autres syndromes de défaillance viscérale [22].

4.3. Remodelage vasculaire postnatal

Le canal artériel est un shunt foetal artérioveineux, laissant passer le sang de l'aorte vers l'artère pulmonaire, qui se cloisonne à la naissance. Un défaut de fermeture du canal artériel est une source de morbidité et de mortalité importante chez le nouveau-né. Des travaux récents ont montré l'importance des plaquettes dans ce cloisonnement. Au cours de la constriction du canal artériel, les cellules endothéliales se détachent. Cela expose la matrice sous-endothéliale déclenchant un recrutement massif de plaquettes par l'intermédiaire des glycoprotéines plaquettaires GPVI et GPIIb-IIIa. Les plaquettes forment un agrégat refermant le canal artériel facilitant ainsi le remodelage de la lumière du canal [22].

4.4.Angiogenèse et cancer :

Les plaquettes contiennent de nombreuses protéines régulant l'angiogenèse qui sont stockées dans les granules alpha . La sécrétion de ces facteurs peut se faire au niveau de la lésion tumorale après activation des plaquettes. Au site de la tumeur, la concentration en thrombine peut être jusqu'à 63 fois supérieure à celle du plasma normal et les cellules endothéliales voient leur expression en facteur tissulaire augmentée .

Bien que les plaquettes contiennent des facteurs proangiogènes (VEGF, PDGF, EGF) et antiangiogènes (TGF-bêta, endostatine), elles semblent stimuler l'angiogenèse tumorale [22].

CHAPITRE III : **MÉCANISME DE THROMBOPÉNIE**

Classiquement on distingue des thrombopénies d'origine centrale ou périphériques

1. Thrombopénies périphériques

Elles résultent de la destruction ou de la consommation des plaquettes d'origine immunologique ou non immunologique, ou à une anomalie de répartition par des phénomènes de dilution ou de séquestration plaquettaires.

Ces thrombopénies périphériques sont de loin les plus fréquentes, caractérisées par un raccourcissement de la durée de vie des plaquettes d'origine périphérique, qui en résulte une stimulation parallèle de la mégacaryopoïèse avec augmentation du nombre, de la taille et de la rapidité de maturation des mégacaryocytes, cependant insuffisante pour compenser les pertes plaquettaires.

1.1. Hyper destruction

L'hyperdestruction est le plus souvent immunologique due à la fixation des immunoglobulines sur les plaquettes . Il peut s'agir d'auto-anticorps se fixant par le fragment Fab de l'immunoglobuline et dirigé vers un antigène spécifique de la membrane plaquettaire particulièrement la GR IIb IIIa ; ou de complexes immuns se fixant sur les plaquettes par le fragment Fc de l'immunoglobuline. Les plaquettes recouvertes par les immunoglobulines sont phagocytées par les macrophages qui interagissent par le récepteur pour le fragment Fc de l'immunoglobuline.

1.2. Hyper consommation

L'hyperconsommation est due à une activation plaquettaire ou à un déclenchement anormal de la coagulation, la thrombopénie y est souvent associée à des anomalies de la coagulation.

1.3. Anomalie de répartition

Par séquestration splénique ou dilution

2. Les thrombopénies centrales :

Elles correspondent à une diminution de la production plaquettaire par réduction du pool des mégacaryocytes d'origine :

- Soit qualitative par des affections constitutionnelles rares ou acquise par un déficit carencielle en vitamine B12 .
- Soit quantitative par mégacaryopoïèse inefficace (acquise ou héréditaire) [31].

Classe physiopathologique		Etiologies	
Thrombopénies centrales (réduction du pool des précurseurs mégacaryocytaires ou thrombopoïèse inefficace)		Radiations ionisantes, agents cytotoxiques	
		Aplasie médullaire, maladie de Fanconi	
		hémoglobinurie paroxystique nocturne	
		Amégacaryocytose congénitale	
		thrombopénie familiale	
		Carence en folate et en vitamine B12	
		Alcool, thiazidique NO	
		Infection virale (CMV, rougeole rubéole)	
Thrombopénie périphériques (consommation et destruction plaquettaire)	Immunologique	Purpura thrombopénique auto-immune (PTAI) idiopathique	
		PTAI associé à maladie de système, syndrome lymphoprolifératif, infection virale (PTAI aigu de l'enfant), infection VIH, anémie hémolytique auto-immune (syndrome d'Evans)	
		Syndrome des antiphospholipides	
		Thrombopénies allo-immunes : thrombopénie néonatale par incompatibilité fœto-maternelle, thrombopénie post-transfusionnelle	
		... Médicaments : quinine et quinidine, héparine, sels d'or, pénicillines	
		Infections bactériennes, virales et parasitaires	
		Autres : allergie, réaction anaphylactique	
		Non immunologique	CIVD infection, complication obstétricales, tumeur, leucémie, angiome, syndrome de Moskovitch (PTT), SHU, prothèse valvulaire
	Pré-éclampsie, HELP-syndrome		
	Infection bactérienne, virale		
	Syndrome d'activation macrophagique (hystiocytose hémophagocytaire)		
	Circuits extracorporelles, sonde de Swan-Ganz		
	Brulures étendues		
	Dilution/séquestration plaquettaire		
	Splénomégalie (congestive, infectieuse, tumorale)		
	Transfusion massive		

Tableau 2 : classification physiopathologique des thrombopénies [G].

3. Les conséquences clinique de la thrombopenie :

Une thrombopénie peut être responsable d'hémorragies spontanées. Un taux de plaquettes supérieur à $20 \times 10^9/L$ est habituellement suffisant pour empêcher les hémorragies graves. La gravité des hémorragies est liée à leur localisation et à leur volume. Les hémorragies muqueuses (épistaxis souvent bilatérales gingivorragies, bulles hémorragiques de la cavité buccale), utérines et cutanées sont très évocatrices de thrombopénie. Au niveau de la peau, la lésion retrouvée est le purpura qui associe pétéchies et ecchymoses.

Les manifestations de gravité sont :

- le purpura extensif ;
- les bulles hémorragiques endo-buccales (face interne des joues) ;
- les hémorragies viscérales, rétinienne ou intracrâniennes ;

- hémorragies extériorisées.

D'une façon générale, le purpura est d'autant plus sévère que :

- les pétéchies sont plus nombreuses ;
- des tâches purpuriques s'y associent ;
- le purpura atteint autant le tronc que les membres inférieurs ;
- un purpura muqueux s'y associe [5].



Figure 16 : *Purpura thrombopénique*[H]

CHAPITRE IV :

DIAGNOSTIQUE BIOLOGIQUE

1. Circonstance de découverte :

Elles sont variables :

- la découverte fortuite suite à un examen systématique (bilan préopératoire, d'une maladie connue) .
- devant des contextes particuliers : réanimation, gynécologie ; (grossesse), post-chirurgie (CIVD, héparinothérapie), pathologie associée (foie, rein, ganglions, rate...) .
- Devant un syndrome hémorragique cutanéomuqueux (épistaxis ,pétéchies ,gingivorragie) .

1.1. Signes hémorragiques surtout purpuriques : [32]

Ils sont de couleur rouge foncé ou bleutée, ne disparaissent pas à la pression et passent successivement par les couleurs de la biligénie avant de disparaître sans séquelle. Répétés et suffisamment prolongés, ils peuvent prendre une couleur brun ocre, à cause de l'hémosidérine qui s'y dépose.

➤ Pétéchies :

Ce sont de petites taches rouges et planes, de 2 à 3 mm de diamètre : les classiques têtes d'épingles. Elles peuvent apparaître spontanément, après la mise en place d'un garrot ou après grattage.

➤ Ecchymoses :

Contrairement aux bleus normaux, lorsqu'elles sont liées à une thrombopénie, les ecchymoses surviennent spontanément ou lors d'un choc minime. On ne peut pas différencier à l'œil les ecchymoses normales des pathologiques.

➤ Hémorragies muqueuses :

Elles se manifestent principalement par des saignements des gencives ou du nez. Les règles peuvent également être plus abondantes et les hémorragies digestives se développent à partir de lésions sous-jacentes.

➤ Bulles hémorragiques :

Forme particulière d'hémorragie muqueuse, leur siège préférentiel est la muqueuse buccale. En règle générale, elles ne sont pas isolées mais intégrées dans un tableau hémorragique cutané .

2. Examen pré-analytique :

2.1. Interrogatoire et examen clinique :

- l'interrogatoire et l'examen clinique précisent l'étiologie, le patient doit être interrogé sur :
- Age (enfant : syndrome hémorragique d'origine héréditaire) .
- ATCD personnels et familiaux .

- Maladie connue et suivie.
- Syndrome infectieux .
- Syndrome anémique.
- Prise de médicaments, chimiothérapie, alcool.
- Notion de Voyage (paludisme).
- Organomégalie (ganglions, rate, foie).
- Patient hospitalisé (complications infectieuses, thrombotiques) [32].

2.2.Prélèvement :

2.2.1.Préparation du patient :

Le prélèvement est fait en général le matin, en dehors de tout contexte d'urgence, de préférence à jeun ou après un déjeuner léger dépourvu de matière grasse. L'alcool, le tabac, sont déconseillés ainsi que l'exercice physique [33- 34]. En effet, l'effort physique entraîne une activation de la coagulation et de la fibrinolyse, des repas riches en lipides peuvent interférer avec plusieurs paramètres (la réactivité plaquettaire, le taux de facteur VII ainsi qu'une hypofibrinolyse), le tabac stimule l'agrégation plaquettaire et la fibrinolyse [35]. L'ingestion d'alcool produit un afflux de sang à la périphérie du corps et une augmentation de VGM , Le prélèvement est effectué chez un patient en position assise, en repos depuis cinq minutes.

Eviter de doser le facteur de Willebrand, le facteur VIII de la coagulation ainsi que la protéines pendant la grossesse, tout résultat anormal pendant la grossesse doit être contrôlé à distance (au moins deux mois après l'accouchement).

2.2.2.Les méthodes de prélèvement :

Le prélèvement est en général fait par ponction veineuse franche au pli du coude (veine de grand calibre) par une aiguille de calibre suffisant (0,7 à 1 mm), permettant un écoulement facile du sang [33].

Le garrot doit être peu serré pour éviter la stase prolongée et maintenu peu de temps, à moins d'une minute, afin d'éviter l'activation des cellules endothéliales et de l'hémostase [33,34, 36].

Il est préférable de rejeter les premiers millilitres de sang prélevés car ils peuvent contenir des débris tissulaires capables d'activer la coagulation. Si d'autres bilans non destinés à l'hémostase sont à réaliser, il est recommandé de prélever les tubes d'hémostase en seconde position, mais pas avant le tube hépariné car ce dernier peut prolonger le TCA sans avoir un impact sur le TP(la thromboplastine contient un inhibiteur de l'héparine) .

Le prélèvement ne se fait pas à la fin car la présence prolongée d'une aiguille dans la paroi endothéliale peut entraîner une activation de la coagulation par lésion de l'endothélium[33, 37].

Selon les recommandations du Groupe d'étude hémostasie et thrombose (GEHT), Les tubes sous vide contenant EDTA sont utiles pour la réalisation de la NFS et les tubes de citrate de sodium 3,8 % qui sont actuellement très utilisés dans le bilan d'hémostasie .

Les tubes prélevés doivent être correctement remplis en respectant le rapport (1 volume d'anti coagulant pour 9 volume de sang) , immédiatement agités par quelques retournements lents, bien étiqueter auprès du patient et Déposer immédiatement à la réception.

3.Diagnostic positif :

1.Numération formule sanguine (NFS):

1.1.Technique manuelle (numération en cellule de comptage) :

Une numération précise des populations globulaire, leucocytaire et plaquettaire peut être effectuée après dilution d'un spécimen sanguin et lecture au microscope à l'aide d'une cellule de comptage (comme par exemple la cellule de Malassez) ou hématimètre. La numération plaquettaire est effectuée après dilution du sang, classiquement collecté sur EDTA, dans une solution d'oxalate d'ammonium lysant les hématies [3].

Après un temps de contact variable avec l'agent de lyse, la solution est déposée dans la chambre de comptage de l'hématimètre. La cellule de Malassez contient deux chambres calibrées et subdivisées en 100 rectangles de 0,01 mm³ chacun, soit un volume de 1 mm³ dans le quadrillage de la zone de comptage. Il suffit ensuite de compter les cellules sanguines (plaquettes) à l'aide d'un microscope dans les zones de lecture afin d'obtenir leur concentration .

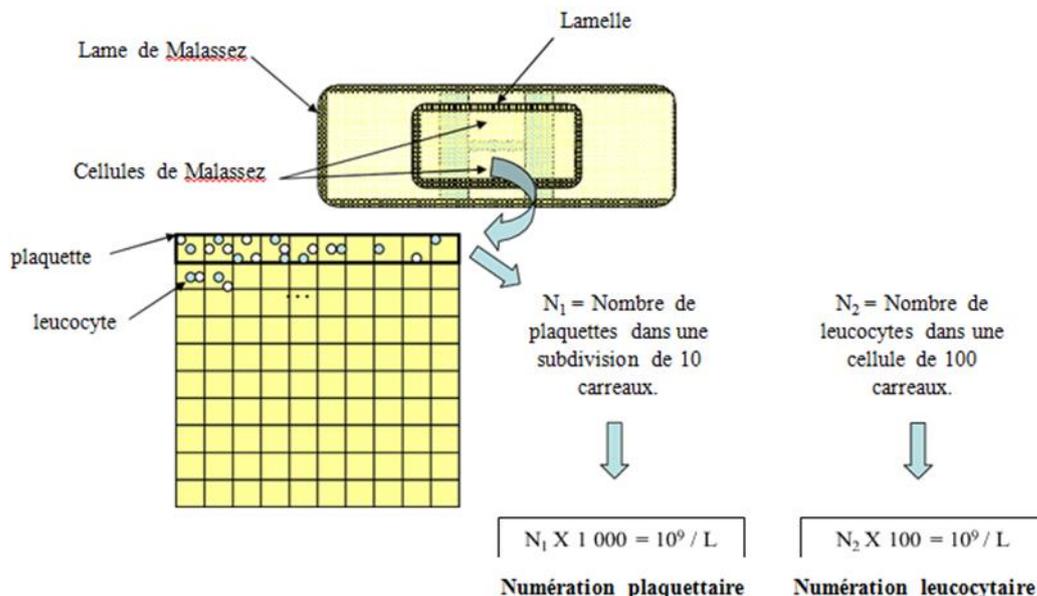


Figure 17 : Comptage sur cellule de Malassez [1].

1.2. Automate :

1.2.1. la technique de mesure par impédance :

Initialement définie par Wallace Coulter un échantillon de sang total prélevé sur EDTA est dilué dans une solution tampon iso-osmotique puis aspiré au travers d'un orifice qui sépare deux chambres, l'une contenant une électrode positive et l'autre une électrode négative [38]. Chaque particule traversant l'orifice produit momentanément une augmentation de la résistance électrique qui est enregistrée comme une impulsion. En outre, la taille de cette impulsion est proportionnelle à la taille de la particule correspondante. Les impulsions sont enregistrées individuellement puis classées au sein d'histogrammes : les AHC énumèrent les plaquettes (PLT) et les globules rouges (GR) sur le même canal de dilution et considèrent les particules de petite taille comme des PLT et les autres particules comme des GR. Diverses améliorations ont été apportées à cette analyse : étude du profil de l'histogramme des volumes plaquettaires et production d'une courbe lissée (améliorant la précision du décompte) si la distribution est (Log) normale, ou/et présence d'un seuil mobile plutôt que fixe pour discriminer PLT et GR. Des messages d'alerte apparaissent quand l'AHC ne réussit pas à extrapoler une courbe lissée ou à séparer nettement les PLT des GR.

1.2.2. La technique de mesure par diffraction lumineuse (optique) :

Utilise la cytométrie en flux: les particules d'un échantillon de sang dilué sont aspirées et cheminent individuellement dans un capillaire. Chaque particule traverse un faisceau lumineux (ou laser) et va à la fois interrompre ce faisceau (chaque interruption correspond au passage d'une particule, ce qui permet ultérieurement d'en obtenir le nombre) et le diffracter. La quantité de lumière diffractée à 1, 2, 3 ou même 4 angles (selon les AHC) est proportionnelle au volume, mais aussi renseigne sur le contenu de la particule. Les PLT sont identifiées sur un histogramme biparamétrique plaquettaire (volume/indice de réfraction). Plusieurs AHC réalisent la numération des PLT par impédance mais peuvent, soit à la demande soit systématiquement, énumérer en plus les PLT par technique optique. En incorporant un composé coloré ou fluorescent au réactif de dilution [39].

1.2.3. Mise en évidence des PLTs sur les automates :

La présence d'amas de PLT est plus ou moins facilement détectée selon les AHC et selon la taille des amas, les AHC les plus simples ayant un faible niveau de détection .

Lorsque l'agrégation est d'intensité modérée, avec un mélange de PLT libres et de petits amas (2-5 PLT), ces derniers sont considérés comme de grosses PLT. L'histogramme plaquettaire montre un excès d'éléments de grande taille, sans retour à la ligne de base vers 20 fL, et la séparation PLT-GR est difficile. Des messages d'alerte peuvent être générés : « présence de grandes plaquettes », « plaquettes géantes » ou « suspicion d'amas plaquettaires » (ou équivalents). Lorsque les amas sont plus volumineux, l'histogramme plaquettaire ne visualise que les PLT non agrégées, et les messages d'alerte issus de cet histogramme sont liés à la difficulté d'analyse de ces quelques PLT résiduelles : « absence de courbe lissée », « résultats bruts », « thrombopénie ». Par contre, les amas volumineux vont perturber l'analyse des leucocytes et sont visualisables sur l'histogramme bi paramétrique de la formule leucocytaire (taille/un autre critère, variable selon l'AHC) sous la forme de particules anormales non leucocytaires. Des messages d'alerte apparaissent : « agrégats de plaquettes », « plaquettes de grande taille ou géantes », ou un message équivalent lié à l'existence de particules de taille modérée (parfois : « érythroblastes ») [39].

Sur certains AHC, la numération leucocytaire est réalisée sur deux canaux différents (voir les anomalies de décompte des leucocytes) : dans le canal qui utilise un agent de lyse puissant des GR, les membranes des leucocytes et des PLT (libres et en amas) sont détruites et la numération leucocytaire est exacte. À l'inverse, dans le canal dédié à la formule leucocytaire, l'agent de lyse des GR respecte les membranes des leucocytes, des PLT et des amas de PLT, et ces derniers seront comptés comme leucocytes et vont surestimer la numération leucocytaire de ce canal. Une différence entre les 2 mesures est alors signalée, et cette discordance doit faire évoquer, entre autres, la présence d'amas plaquettaires.

Les AHC qui réalisent la numération et la formule leucocytaires sur le même canal seront moins sensibles à la détection des amas de PLT, et une observation attentive des histogrammes sera d'autant plus nécessaire.

Les AHC les plus simples qui ne réalisent pas de formule, même approchée, visualisent mal les agrégats. Avec les AHC qui analysent les particules du canal de numération leucocytaire en trois populations (lymphocytes, monocytes, granulocytes) (Beckman, Horiba Medical), les amas de PLT apparaissent sous forme d'un pic de particules de petite taille : les messages d'alerte générés sont souvent communs aux trois principaux artéfacts interférant dans cette région, c'est-à-dire les agrégats de PLT, les PLT géantes et les noyaux d'érythroblastes [40].

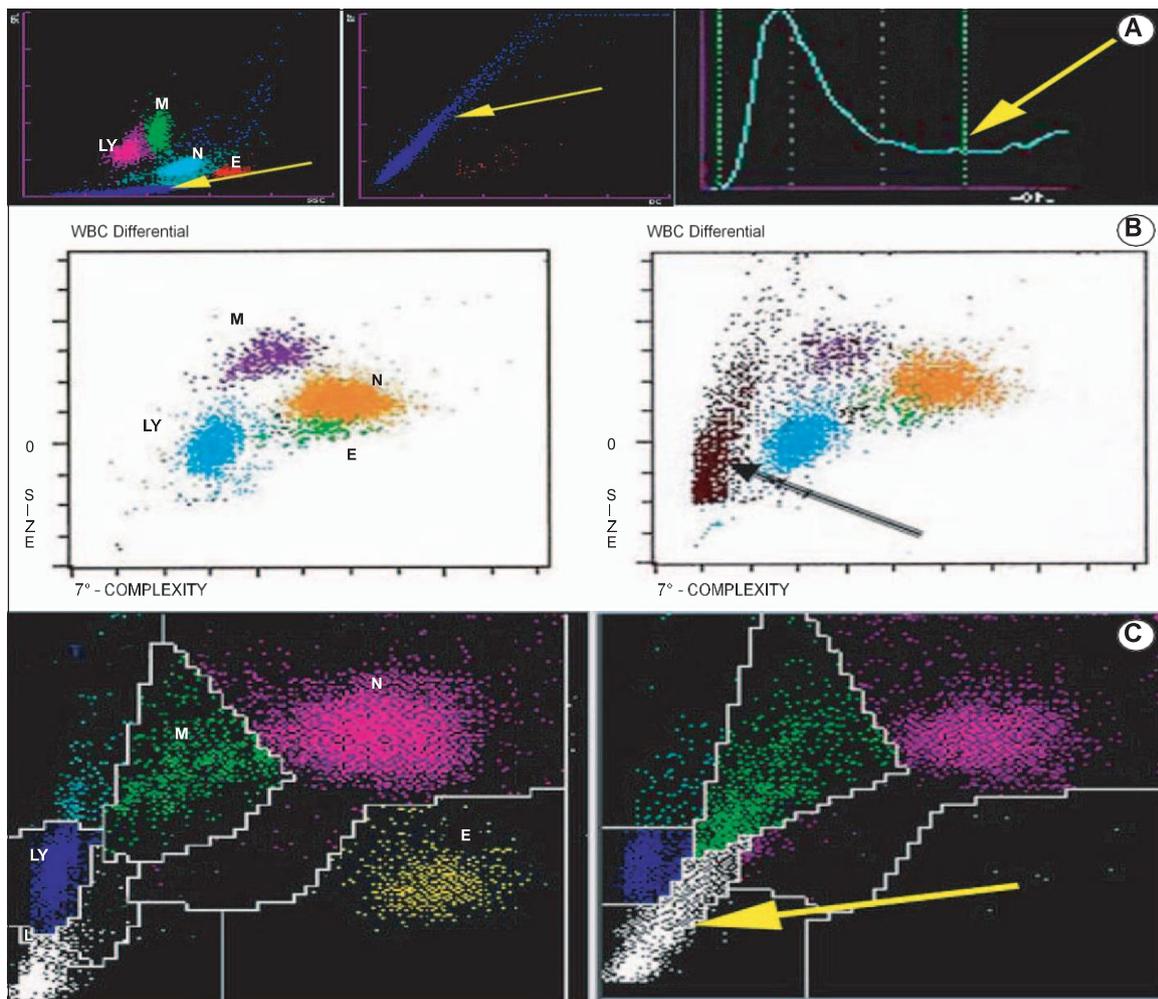


Figure 18 : Visualisation des agrégats plaquettaires sur les histogrammes des automates. [J]

A : avec l'automate XE-2100 (Sysmex), les amas apparaissent sur l'histogramme DIFF (formule leucocytaire) sous forme d'un nuage allongé (graphe de gauche ; flèche). Sur le graphe qui visualise une éventuelle myélémie (IMI), ces amas forment un nuage qui prolonge le nuage des leucocytes (centre ; flèche). Sur le schéma de droite, on remarque l'absence de retour à la base de l'histogramme des volumes plaquettaires (flèche).

B : avec l'automate Cell-Dyn Sapphire (Abbott), à côté des populations leucocytaires normales (image de gauche), l'histogramme taille/complexité visualise un nuage anormal (en noir, image de droite).

C : avec l'automate Advia 2120 (Siemens) on observe sur l'histogramme de droite (formule Perox) un nuage de points (en blanc), absent de l'image normale (à gauche), et qui recouvre une zone particulière dans laquelle ces amas seront énumérés. E = éosinophiles ; Ly = lymphocytes ; M = monocytes ; N = neutrophiles.

1.2.4. Résultats sur automate :

Selon le laboratoire où le prélèvement est effectué, la valeur normale du taux de plaquettes est comprise entre 150 000 et 400 000 par mm³ quel que soit l'âge et le sexe [41].

- < 150 G/L = Thrombopénie
- > 400 G/L = Hyperplaquettose (Thrombocytose)

1.2.5. Evaluer le risque hémorragique :

- Si plaquettes entre 60 et 150 G/l : thrombopénie légère (aucun syndrome hémorragique ne doit être attribué au nombre de plaquettes). Il peut s'agir d'une pseudo-thrombopénie, agrégation des plaquettes de certains sujets sur EDTA (phénomène non pathologique) vérifier par :
 - agrégats sur lame
 - Numération des plaquettes par prélèvement sur citrate
- Si plaquettes comprises entre 20 et 60 G/l : thrombopénie modérée sans syndrome hémorragique sauf si présence d'une anomalie surajoutée (coagulopathie, anomalie des fonctions plaquettaires, présence de syndrome hémorragique après traumatisme).
- si plaquettes < 20 G/l : thrombopénie sévère, syndrome hémorragique spontané sévère et provoqué très sévère.
- Si, malgré cette précaution, les plaquettes restent entre 100 et 150 G/l : aucune exploration complémentaire ne doit être envisagée. Une nouvelle numération des plaquettes sera réalisée trois mois plus tard. En cas de stabilité et s'il n'apparaît aucun autre signe clinique ou biologique donnant une valeur sémiologique au chiffre plaquettaire, l'état hématologique sera considéré comme normal [42].

2. Le frottis sanguin :

2.1. Principe :

Le frottis est réalisé à partir de l'échantillon de sang prélevé sur anticoagulant pour la numération globulaire. Le frottis traditionnel manuel comporte plusieurs zones : le début du frottis qui est une zone épaisse, le corps du frottis où se situe la zone de lecture, et les franges où les éléments sont sur-étalés et déformés. La répartition des cellules n'est pas homogène sur le frottis ; en effet, les cellules de grande taille se trouvent généralement vers

les bords et les franges. Plusieurs types de techniques de confection automatisée d'étalements sanguins avec un ajustement en fonction de l'hématocrite ont été successivement commercialisés. La technique qui s'est généralisée donne un étalement proche du frottis manuel avec, comme avantage, une extension de la zone de lecture [43].

2.2. confection :

1. Nettoyer 2 lames à l'alcool (faces et tranches), les sécher avec du papier absorbant, les déposer sur papier absorbant.
2. Prélever une goutte de sang à l'aide du compte-goutte.
3. Déposer la goutte de sang à l'extrémité d'une lame .
4. Appliquer une autre lame inclinée à 45° en avant de la goutte de sang de façon à ce que le sang s'étale sous la lame par capillarité .
5. Faire glisser la lame inclinée à 45° pour étaler uniformément la goutte .
6. Sécher le frottis avec le sèche-cheveux.
7. Repérer au marqueur, avec une lettre F, la face où se trouve le sang [44].

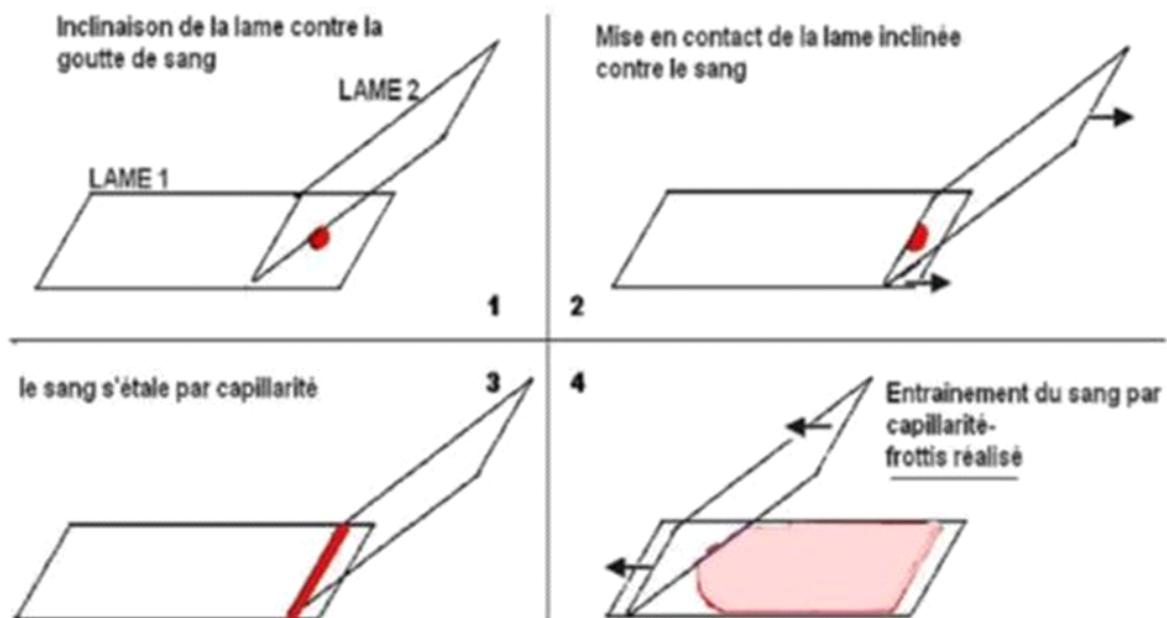


Figure 19 : Schéma de la procédure de réalisation d'un frottis .

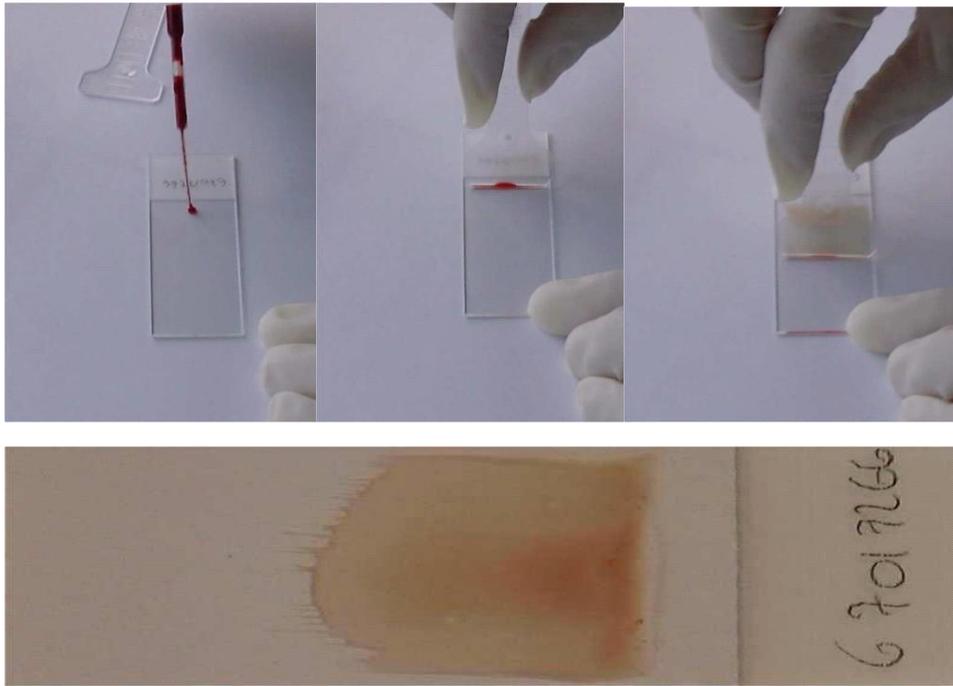


Figure 20 : Exemple de frottis sanguin

2.3. Bon frottis:

Bonne taille ($\frac{1}{2}$ à $\frac{3}{4}$ de la lame) Bonne densité, goutte étalée en entier.

2.4. Coloration :

La coloration des frottis peut être manuelle ou automatisée. La coloration combinée de MayGrünwald-Giemsa (MGG), dite coloration panoptique de Pappenheim, et celle de Wright ont succédé à l'ancienne coloration aux triacides d'Ehrlich modifiée par Romanovski. [43].

2.4.1. Les constituants chimiques de la coloration de MGG :

le mélange de May-Grünwald est théoriquement un éosinate d'azur de méthylène (éosine Y + azur II de méthylène) dissous dans l'alcool méthylique.

À partir de 1902—04 (publications de Giemsa) [45,46], l'azur II a été utilisé comme un mélange délibéré de bleu de méthylène non oxydé et d'azur B ,ce qui permet d'avoir deux sources internes de dérivés azurés qui interagissent avec l'éosine.

Les formulations modernes associent l'éosinate d'azur B et le bleu de méthylène sont disponibles en poudre ou bien en solution-mère alcoolique (méthanol + glycérol v/v). Mais les solutions proposées par les industriels peuvent varier : le mélange de May-Grünwald peut comporter seulement du bleu de méthylène non oxydé et de l'éosine Y qui, une fois en solution aqueuse, vont produire des dérivés azurés colorants dont l'éosinate d'azur B .

Le mélange de Giemsa quant à lui est également un colorant neutre, mélange complexe de bleu de méthylène, d'éosinate d'azur et de violet de méthylène, Il est volontiers dénommé « azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa » par les industriels (Merck Millipore notamment) [48].

2.4.2.Mécanisme d'action :

Le mélange de May-Grünwald, comme les autres mélanges de Romanowsky est donc un colorant(sel neutre et instable) résultant de la combinaison d'une base et d'un acide :

Le premier composé est une base cationique bleue : le bleu de méthylène ou l'azur B de méthylène qui sont des thiazines (composés organiques ayant un cycle contenant quatre atomes de carbone, un atome d'azote et un atome de soufre). Tous deux ont une charge électrique nominale de +1.

Le deuxième composé est un acide anionique rouge : l'éosine, qui est un xanthène (composé organique tricyclique constitué d'un cycle de pyrane entouré de deux cycles benzéniques). La charge électrique nominale de l'éosine B et de l'éosine Y est de —2.

Au contact des cellules et en présence d'eau, le mélange de May-Grünwald va se dissocier grâce à la dilution du bleu de méthylène et/ou de l'azur B en des sous-produits basiques bleus de type azur A, azur C, violet de méthylène et thionine [48,49].

Le colorant de May-Grünwald va se fixer essentiellement sur les noyaux et les acides nucléiques cytoplasmiques, donc sur l'ergastoplasme (REG) et sur les ribosomes libres des cellules à forte activité de biosynthèse protéique. En effet les dimères d'azur B, unis par des forces de van der Waals et chargés positivement sont attirés par les charges électro-négatives des groupements phosphate de l'ADN et par des interactions hydrophobes avec les bases puriques (A, G) et pyrimidiques (C, T).

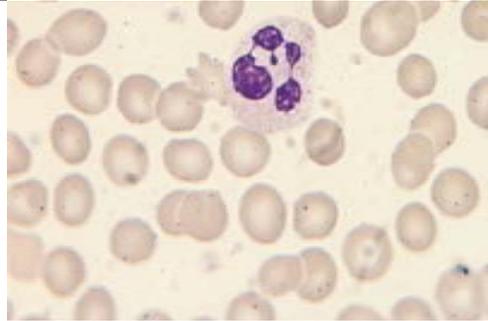
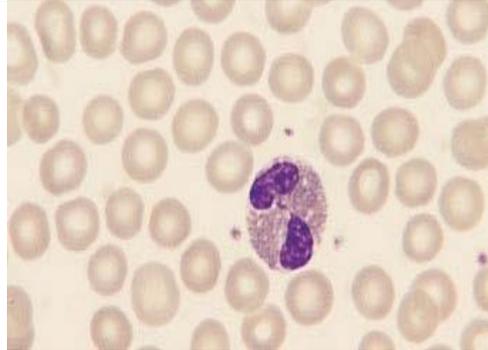
L'éosine, quant à elle, se fixe préférentiellement sur les protéines ayant des charges positives (groupements aminés et chaînes latérales de la lysine et de l'arginine), c'est-à-dire sur les membranes et sur les cytoplasmes ainsi que sur l'hémoglobine [47,48]. et donc Les structures acidophiles de la cellule seront colorées en rose, rouge ou orangé, les structures basophiles en bleu (bleu clair, bleu foncé, bleu violet, pourpre)[43].

2.4.3.Etapes de colorations :

- Recouvrir entièrement le frottis de la solution de May-Grünwald et laisser agir 3 minutes (Fixation du FM).
- Diluer en y ajoutant une égale quantité d'eau (tamponnée) et laisser agir 2 minutes.
- Rincer à l'eau du robinet (Coloration au MG).
- Recouvrir le FM d'une solution de Giemsa diluée préparée extemporanément (1 vol. De Giemsa + 9 vol. d'eau tamponnée) et laisser agir 15 à 20 minutes.
- Rincer abondamment à l'eau du robinet, égoutter et sécher à l'abri des poussières[50].

2.4.4. Etude de frottis sanguin :

Le frottis est examiné au microscope optique à immersion G×100 ,

Aspect au microscope optique après Coloration	Description
	<p>polynucléaire neutrophile:</p> <p>Taille : 12-14 μ arrondi.</p> <p>Noyau: Polylobé 2-6 lobes (2-3 les plus nombreux)</p> <p>Cytoplasme: clair acidophile</p> <p>Granulations: neutrophiles violettes régulières tes fines et nombreuses</p>
	<p>Polynucléaire éosinophile:</p> <p>Taille: 12-14μ arrondi.</p> <p>Noyau: 2-3 lobes</p> <p>Cytoplasme: clair, acidophile presque pas visible recouvert par les granulations</p> <p>Granulations: acidophiles, roses, rondes, nombreuses</p>
	<p>Polynucléaire basophile :</p> <p>Taille: 11-13 μ arrondi</p> <p>Noyau: 2-4 lobes denses</p> <p>Cytoplasme: acidophile clair</p> <p>Granulations: très nombreuses pouvant recouvrir le noyau anguleuses bleu-violet foncé</p>

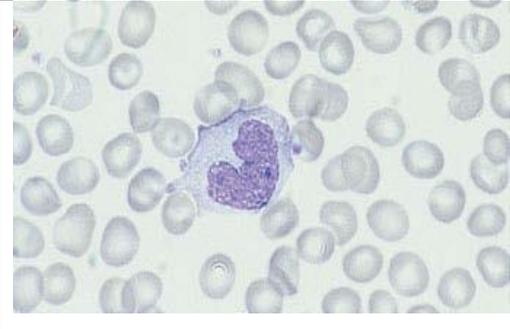
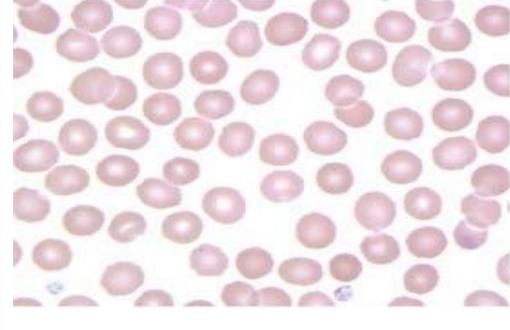
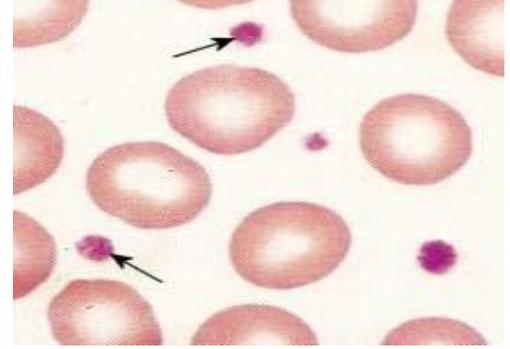
	<p>Lymphocyte :</p> <p>Taille: 10-15 μ Arrondi déformable(les bords épousent la forme des cellules mitoyennes).</p> <p>Noyau: rond ovale ou en drapeau</p> <p>Cytoplasme:bleu très clair</p> <p>Granulations: quelques rares granulations azurophiles en paquet</p>
	<p>Monocyte :</p> <p>Taille: 18-21 μ arrondi très déformable</p> <p>Noyau: rond ou encoché</p> <p>Cytoplasme: basophile clair</p> <p>Granulations: très fines et très nombreuses azurophiles</p>
	<p>Globules rouges:</p> <p>Taille: 7.2 μ biconcave</p> <p>Noyau: NÉANT</p> <p>Cytoplasme: Acidophile gris-rose centre clair</p> <p>Granulations: NÉANT(Présence d'un réseau de chromatine chez le Reticulocyte)</p>
	<p>Plaquettes :</p> <p>Taille: 1-3 μ</p> <p>Noyau: NÉANT</p> <p>Cytoplasme:Basophile clair</p> <p>Granulations: Azurophiles taille moyenne éparpillées</p>

Tableau 3 : les elements figurés du sang d'un frottis colorés par MGG sous microscope optique .

Ce frottis permet d'éliminer la fausse thrombopénie peut être causé par :

2.4.4.1. Les pseudo-thrombopénies dues aux erreurs pré analytiques :

telles qu'un prélèvement difficile, un défaut d'anticoagulant par excès de remplissage du tube, une absence d'agitation .

2.4.4.2. Agglutination dépend de l'EDTA :

La PTE correspond à un phénomène provoqué in vitro par des anticorps particuliers, présents dans les échantillons sanguins prélevés sur EDTA, et qui réagissent avec les PLT pour les agréger entre elles.

Les études de transfert ont montré que le plasma EDTA des patients présentant une PTE était capable d'agréger les PLT de tous les patients sauf celles de la thrombasthénie de Glanzmann, suggérant que le complexe glycoprotéique α IIb/ β IIIa, récepteur du fibrinogène, était impliqué dans la PTE [51]. Un anticorps monoclonal a d'ailleurs été produit qui reconnaît un épitope sur l'intégrine α IIb/ β IIIa, dont l'accessibilité est augmentée lors du contact des PLT avec l'EDTA

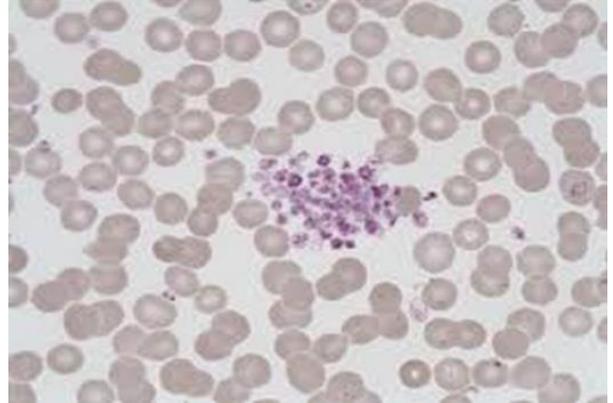


Figure 21 : Agrégation plaquettaire liée à EDTA

[52]. La thrombopénie artéfactuelle qui apparaît fréquemment chez les patients traités par des antagonistes des récepteurs α IIb/ β IIIa en est une autre preuve indirecte [53]. Le mécanisme le plus vraisemblable de la PTE est qu'un site antigénique normalement caché (cryptique) du complexe α IIb/ β IIIa est modifié ou exposé seulement en présence d'EDTA. Bien que plutôt restreinte à l'EDTA, l'aggrégation des PLT se produit parfois avec d'autres anticoagulants, dont le citrate trisodique [54].

Quelques publications rapportent cependant que d'autres protéines que des anticorps pourraient être responsables de la PTE, voire que des complexes immuns interviendraient par un jeu d'interactions entre Fc des immunoglobulines et récepteurs plaquettaire [55].

2.4.4.3. Satellitisme des plaquettes autour des leucocytes :

Le satellitisme des plaquettes, ou satellitose, ou rosettes leucoplaquettaires, est un phénomène acquis in vitro en présence d'EDTA et lié à l'adhésion des plaquettes à la membrane des polynucléaires neutrophiles (PNN) matures ou parfois à d'autres cellules [56]. Il s'agit d'une situation rare (estimée à environ 1 pour 12 000 échantillons sanguins), quelquefois reliée à un processus auto-immun mais, dans la plupart des cas, sans relation avec une maladie spécifique [56]. Sa signification clinique n'est pas connue. Il a été montré à plusieurs reprises, en utilisant soit des anticorps anti-Ig soit avec une absorption spécifique de chacune des fractions d'Ig, que les IgG étaient le médiateur, avec ou sans participation des récepteurs Fc gamma des PNN [56,57]. L'implication du complexe glycoprotéique α IIb/ β IIIa de la membrane des PLT a été également avancée [57], tout comme la présence d'auto-anticorps IgG dirigés contre un antigène cryptique commun au complexe α IIb/ β IIIa des PLT et au récepteur Fc gamma III (CD16) des PNN et possiblement démasqué en présence d'EDTA, ou la présence de cryofibrinogène ou de thrombospondine [58,59].

le satellitisme observé dans les premières minutes suivant le prélèvement évolue en quelques heures par migration progressive des plaquettes à un pôle du PNN, conférant un aspect d'amas de PLT collées à la membrane leucocytaire, puis après quelques heures

supplémentaires « l'amas plaquettaire » se détache de la membrane du PNN, conduisant à des PNN libres d'une part et des amas de plaquettes d'autre part. Selon le temps écoulé de l'échantillon à l'analyse, le satellitisme ou les agrégats plaquettaires sont l'élément dominant observable. Quand le satellitisme est présent, la numération des PLT est en général diminuée de 50 à 100 G/L (on peut énumérer approximativement le nombre de PLT adhérant aux PNN). Une (pseudo) thrombopénie n'est donc pas constante. Il n'y a pas de message d'alerte spécifique : dans la plupart des cas, c'est l'histogramme biparamétrique de la formule leucocytaire qui montre une localisation anormale des PNN souvent de taille inhabituellement grande, et les messages d'alerte indiquent la localisation anormale des PNN et/ou la présence de granulocytes immatures (car de grande taille). Parfois, les amas de PLT libres vont polluer le nuage des lymphocytes. Le satellitisme ne survient pas avec l'anticoagulant citrate et un prélèvement de cette nature est alors préconisé.

Plus rarement, le satellitisme des PLT a pu être rapporté autour d'autres cellules, notamment autour des monocytes dans des échantillons de sang EDTA], ou spécifiquement autour des polynucléaires basophiles dans un cas de leucémie myéloïde chronique [60], ou spécifiquement autour d'éosinophiles [56]. Le satellitisme des PLT autour des lymphocytes ou autour de cellules de lymphome a été également rapporté, les quelques manipulations réalisées dans ces cas impliquant ou non une Ig et le CD16 [61].

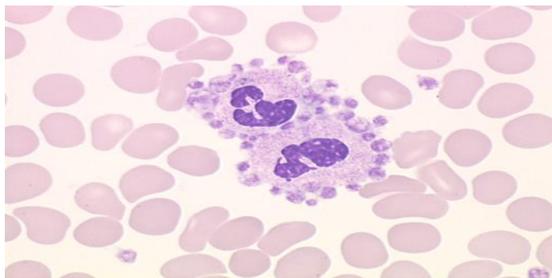


Figure 22 : satellitisme des PLT autour des PNN (coloration MGG)

2.4.4.4. Les macrothrombocytes ou plaquettes géantes :

Par mécanisme physique il est question d'anomalies de détection des plaquettes du fait de leur taille ou de leur volume. Les comptages par impédancemétrie ignorent les méga ou macrothrombocytes. L'automate XE2100™ de Sysmex utilise une double mesure optique (une diffraction à petit angle renseignant sur le volume et une émission de fluorescence), permettant ainsi de supprimer ce type de piège dans la majorité des cas. En dernier recours, seule la numération en cellule de comptage au microscope optique permet de contrôler la numération plaquettaire. Dans des cas normaux et dans plusieurs situations pathologiques, certaines plaquettes ont un grand volume. Les automates considèrent les particules ayant un volume compris entre 30 et 36fl comme des plaquettes. En prenant en compte ces automates et les échantillons sanguins certaines plaquettes pourront être oubliées. Dans les situations pathologiques comme les syndromes myélodysplasiques il faudra faire attention aux plaquettes qui sont de taille proche des globules blancs et risquent d'être énumérés comme tel. La présence des plaquettes géantes héréditaires peuvent être à l'origine de pseudothrombopénies [62].

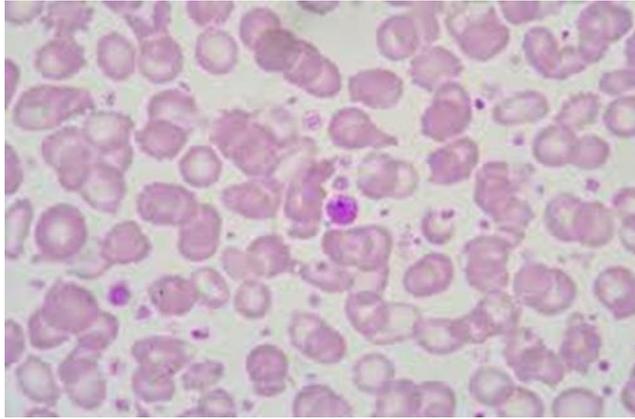


Figure 23 : Plaquette géante (coloration MGG)

2.4.4.5. Activité agglutinine froide des cryoglobulines IgM monoclonale (type1) vis-à-vis des plaquettes :

L'agglutinine froide est présente dans le sérum et le plasma, c'est une immunoglobuline qui est adsorbée par les plaquettes en absence de cations bivalents, et réagit seulement à une température inférieure à 37°C. Elle agglutine les plaquettes mais apparaît sans effet sur la fonction plaquettaire in vivo, et elle peut être à l'origine d'une pseudo-thrombopénie.

La présence d'un agent agrégeant a été mise en évidence devant la discordance des comptes plaquettaires sur automate et au microscope. Après le constat de l'agglutination à la température ambiante, une attention particulière a été faite pour déterminer l'agglutinine responsable.

Le mécanisme est aussi immunologique, mais non imputable à l'EDTA. La formation d'agrégats plaquettaires est sous la responsabilité d'un auto anticorps de type agglutinine froide qui apparaît dans les maladies auto-immunes. Il s'agit d'une thrombocytoagglutinine, car elle est dirigée contre les plaquettes. L'agglutination des plaquettes EDTA-indépendante, est un phénomène spontané rare et moins souvent décrit. Les agglutinines froides ont été caractérisées par les techniques d'ELISA, immunostaining et western blott [62].

2.4.4.6. Les Pseudo-thrombopénies de nature chimique

C'est un phénomène non immunologique, indépendant de l'EDTA ou du citrate conventionnel utilisé en coagulation et irréversible. La formation d'agrégats dans ce cas est due à une augmentation du pH dans le tube au cours du temps correspondant à un phénomène d'alcalinisation du milieu. Pour avoir un comptage exact, il faut prélever le sang sur un tube avec un citrate spécial dit « citrate acide » [62].

4. Diagnostic du mécanisme de la thrombopénie :

4.1. Temps de saignement :

Le temps de saignement constitue un test global in vivo de l'hémostase primaire [63].

Ce paramètre est mesuré selon 2 méthodes : la méthode de DUCK qui est abandonnée, et la méthode d'IVY qui consiste à pratiquer une incision sur la face antérieure de l'avant-bras, standardisée par l'emploi de dispositifs à usage unique (Simplat® , Surgicut®) et par le maintien d'une pression constante de 40 mmHg au niveau du bras pendant 60 secondes. Après

incision, l'écoulement sanguin est absorbé par un papier buvard toutes les trente secondes, sans toucher la plaie. Le TS exprimé en minutes est défini par le temps nécessaire à l'arrêt de l'hémorragie. Ce paramètre peut être considéré comme normal jusqu'à 10 minutes[64].

Malgré des efforts faits sur la standardisation, le temps de saignement est opératoire dépendant, influencé par des variables du patient et peu reproductible[63,65].

Le temps de saignement est normal dans un pourcentage appréciable de déficits légers de l'hémostase primaire. Il a été montré qu'il n'y a pas de corrélation entre le TS et le nombre plaquettaire et surtout, ce paramètre n'est pas prédictif du risque hémorragique. En fait, le TS se révèle moins performant qu'un interrogatoire détaillé dans la prédiction d'un risque hémorragique.

4.2. Le temps d'occlusion plaquettaire :

Un analyseur PFA-100 (platelet function analyzer) [66] est un automate qui permet d'évaluer la capacité fonctionnelle globale des plaquettes, en sang total citraté, sans aucune préparation préalable de l'échantillon sanguin. D'utilisation simple, le PFA-100® simule in vitro les conditions rencontrées lors d'une brèche de la paroi artériolaire en mimant donc une hémostase primaire artificielle [67].

D'un point de vue technique, du sang total prélevé sur tube citraté est aspiré dans des conditions rhéologiques standardisées à travers un capillaire qui débouche sur une membrane recouverte de collagène ainsi que d'un activateur plaquettaire : l'épinéphrine ou l'ADP. Il existe donc deux TOP en fonction des agonistes utilisés : CEPI (collagène/épinéphrine) et CADP (collagène/ADP). La membrane est pourvue d'un orifice et le sang ainsi aspiré est soumis à des taux de cisaillement élevés. Ces agonistes déclenchent l'adhérence, l'activation et l'agrégation plaquettaires, conduisant à une occlusion rapide de l'ouverture et à la cessation de flux de sang. L'ensemble propose donc de reproduire in vitro le comportement du sang dans un vaisseau de petit diamètre lésé, la membrane faisant office de matrice extracellulaire. La fonctionnalité de ces plaquettes est appréciée en fonction du temps d'occlusion.

La connaissance de la numération formule sanguine est essentielle pour l'interprétation des résultats du PFA-100. La thrombopénie (<100 G/L) et l'anémie (hématocrite < 20%) se traduisent souvent le prolongement de TOP ,Le TOP est également corrélé inversement proportionnelle à l'activité de VWF plasmatique chez les sujets normaux et peut donc être plus longue chez les patients du groupe sanguin O [68].

4.3. Bilan global :

4.3.1. Le temps de céphaline activée (TCA)

Ce test explore la voie endogène (facteurs VIII, IX, XI et XII) et la voie finale commune (facteurs I, II, V et X). Il correspond au temps de coagulation d'un plasma, décalcifié et déplaquetté, en présence de céphaline, d'un activateur des facteurs et de calcium. Le temps normal va dépendre de chaque laboratoire, et varier de 30 à 40 secondes. Un laboratoire doit donc toujours rendre un temps témoin pour permettre l'interprétation du test. On considère que le TCA est anormal lorsque le rapport temps du malade / temps du témoin est supérieur à 1,2, ou qu'il dépasse 6 à 8 secondes celui du témoin [69 ,70]

4.3.2. Le temps de Quick (TQ) ou taux de prothrombine (TP):

Ce temps explore la voie exogène et la voie finale commune. Il correspond au temps que met à se former un caillot de fibrine dans un plasma en présence de thromboplastine, source de facteur tissulaire, et de calcium. Il peut aussi être exprimé en pourcentage par rapport à un témoin auquel est attribué un taux de 100 % : c'est le temps de prothrombine.

Le taux normal de prothrombine doit être compris entre 70 et 100 % .

L'OMS préconise d'exprimer le TP en INR (TQ malade/TQ témoin)^{isi} chez les patients sous AVK pour limiter les variations inter laboratoires due à l'utilisation de réactif différent[69,71] .

4.4. Myélogramme :

Le myélogramme consiste à analyser la moelle osseuse qui se trouve dans les os. Cet examen est utile si le taux de plaquettes est inférieur à 80G/L, et pourra parfois être utilement complété par une biopsie ostéo-médullaire (infiltration néoplasique, aplasie médullaire acquise, fibrose médullaire). Le myélogramme pourra donc ainsi fournir plusieurs renseignements :

- Richesse en mégacaryocytes : d'interprétation semi-quantitative, cette appréciation est largement perfectible. En pratique seule l'absence ou la diminution franche des mégacaryocytes seront en faveur d'un mécanisme central.
- Anomalie qualitative de la maturation des mégacaryocytes (dysmégacaryopoïèse).
- Quantification et aspect des précurseurs granuleux et érythroblastiques (ex. anémie mégaloblastique).
- Infiltration médullaire anormale (processus tumoral).
- Hémophagocytose.
- Nécrose médullaire [72].

4.5. Etude isotopique de la durée de vie des plaquettes :

L'épreuve isotopique, après marquage des plaquettes du patient par un isotope radioactif, permet de préciser la durée de vie des plaquettes (très diminuée en cas de PTI), le siège de destruction préférentiel des plaquettes (rate, rate + foie).

Son indication peut se discuter dans des cas de diagnostic difficile et avant splénectomie afin de vérifier que c'est bien la rate qui est le siège préférentiel de destruction des plaquettes. Cet examen a en effet une valeur diagnostique, mais aussi prédictive du succès de la splénectomie [73].

4.6. Etude immunologique :

4.6.1. Détermination des anticorps anti-plaquettes :

4.6.1.1. MAIPA :

Ce test permet de détecter avec une grande sensibilité les anticorps anti-plaquettes et d'en caractériser la spécificité [74]. Le principe du test repose sur la capture d'un antigène plaquettaire à l'aide d'anticorps monoclonaux de souris dirigés contre des glycoprotéines

membranaires des plaquettes humaines et l'analyse de la fixation d'anticorps humains sur cet antigène par une technique immuno-enzymatique de type Elisa.

Une première étape inclus systématiquement le dépistage des anticorps fixés sur les glycoprotéines des plaquettes autologues (MAIPA direct) et des anticorps circulants capables de se fixer sur les glycoprotéines de plaquettes témoins (MAIPA indirect).

Les anticorps révélés par le MAIPA direct signent un processus d'auto-immunité alors que les anticorps détectés par le MAIPA indirect signent un processus d'allo-immunisation.

Une deuxième étape d'identification est réalisée sur le principe du MAIPA indirect à partir de plaquettes de type HPA connu permettant de déterminer, en fonction du profil de réactivité pour chaque complexe glycoprotéique, le ou les antigène(s) HPA cibles d'une allo-immunisation ou de confirmer un processus d'auto-immunité [74].

➤ **Identification des glycoprotéines membranaires plaquettaires :**

La quantification de glycoprotéines membranaires plaquettaires : GPIIb-IIIa et GP Ib-V-IX se fait actuellement par un cytomètre en flux; qui fait appel à la fois à des principes de fluidique, d'optique et d'électronique. La cytométrie en flux exploite l'aptitude d'une cellule qui a incorporé un fluorochrome, à émettre un signal de fluorescence lors de son passage devant un faisceau laser. Le plus souvent, les fluorochromes sont couplés à des anticorps, plus rarement à des protéines (par exemple l'annexine V), ou encore sont incorporés directement par la cellule (mépacrine, thiazole orange) [75].

La cytométrie en flux permet d'étudier rapidement quelques caractéristiques d'un grand nombre de cellules. Il est donc possible d'en tirer des statistiques fiables. Actuellement, elle représente un outil important dans l'exploration biologique des plaquettes, pour laquelle de nombreuses applications de la cytométrie en flux ont été développées pour l'exploration des fonctions plaquettaires.

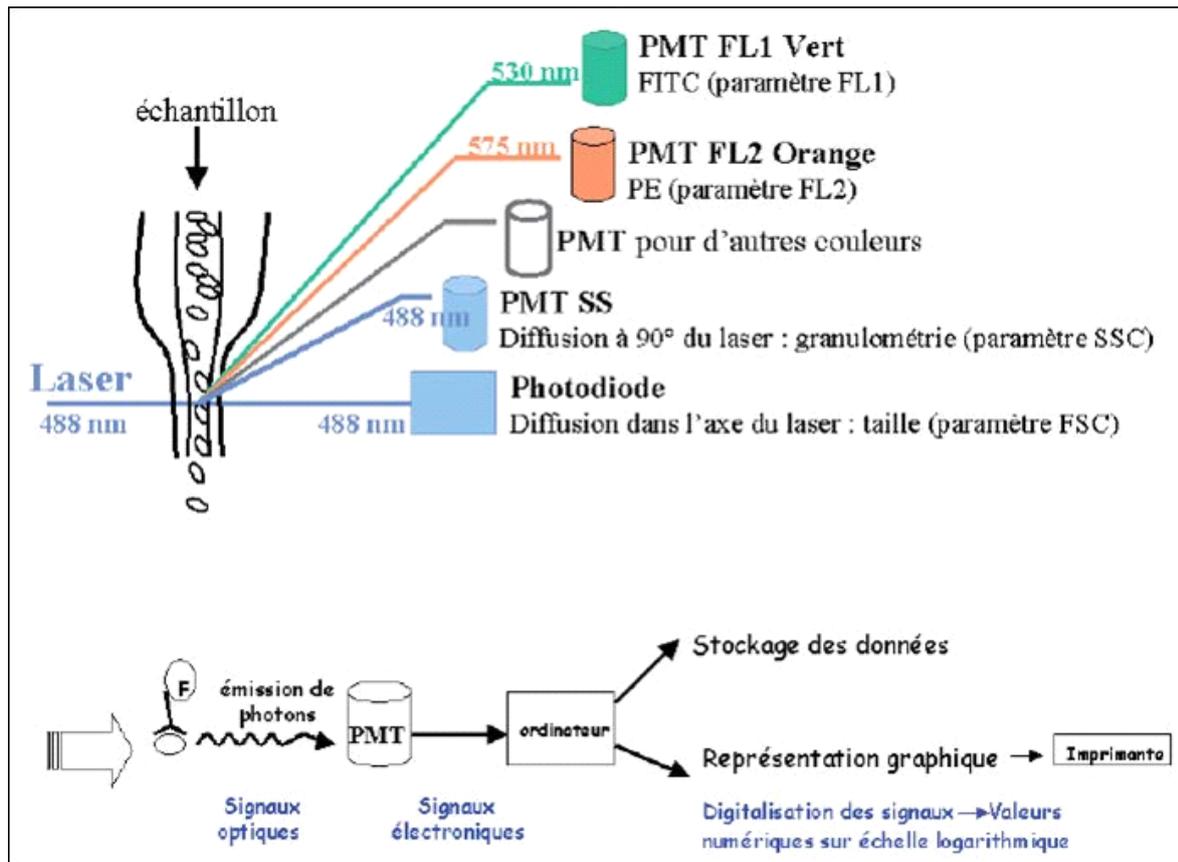


Figure 24 : Représentation schématique d'un cytomètre en flux[K].

➤ Etude de l'agrégation plaquettaire in vitro :

L'étude in vitro de l'agrégation plaquettaire est réalisée à 37 °C dans un agrégomètre. Les plaquettes en suspension dans le plasma (plasma riche en plaquettes, PRP) sont agitées par un barreau magnétique qui virevolte sur lui-même à vitesse de 1100 rpm, et mises en contact avec un agoniste (ou agglutinant la ristocétine). L'agrégomètre mesure le changement de densité optique du PRP pendant les diverses étapes de l'activation plaquettaire. Lors de l'addition d'un agoniste, les plaquettes sont activées et subissent un changement de forme de discoïde à sphérique avec de nombreux pseudopodes, ce qui est associé à une augmentation transitoire de la densité optique et mise en évidence par une déviation négative de la courbe. Le tracé d'agrégation est calibré entre 0% et 100%, 0% correspondant à la PRP et 100% pour le PPP. Le tracé d'agrégation devrait être enregistré pendant au moins 5 minutes, mais de préférence 10 min. L'interprétation de ces courbes tient en compte de plusieurs paramètres : la phase de latence, changement de forme plaquettaire, la vitesse ou pente d'agrégation, l'agrégation primaire et secondaire, la réversibilité et l'amplitude maximale de l'agrégation[64, 76].

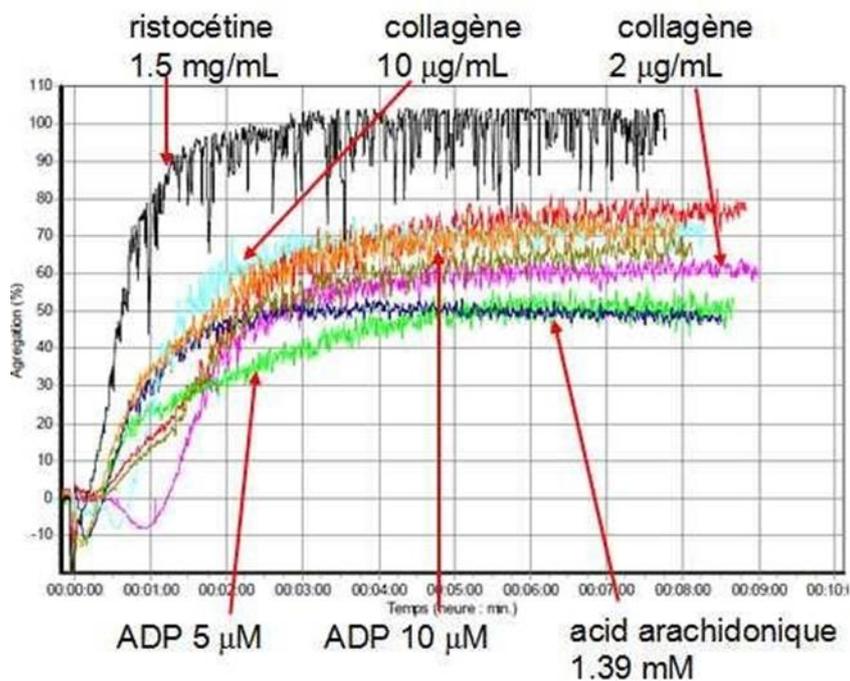


Figure 25 : Courbe d'agrégation plaquettaire [L].

5. Tests pour les granules :

La microscopie électronique s'est également avérée très utile pour examiner l'ultrastructure des granules [77]. Des protéines spécifiques aux granules plaquettaires telles que le facteur plaquettaire-4 (PF4) et la beta-thromboglobuline (TG), peuvent être mesurées par ELISA, dosage radio-immunologique ou Western blot[64, 78].

6.Examens complémentaires :

6.1.Sérologie virale :

Une sérologie consiste en l'analyse de l'échantillon d'un patient (généralement de sang) pour déterminer la présence ou l'absence d'un anticorps spécifique ou mesurer la quantité de cet anticorps présent dans le sang , elle permet la recherche des virus les plus incriminés dans les thrombopénies par technique ELISA (VIH,VHB,VHC,EBV,CMV)[79] .

6.2.Screening global d'anticorps anti-phospholipides :

La recherche globale d'APL est faite par un test de type Elisa (PHOSPHO-LISA©, Theradiag, Marnes-la Vallée, France). Différents PL (cardiolipine, annexine V, phosphatidylsérine, phosphatidylinositol et la phosphatidyléthanolamine) sont coatés sur une plaque et les IgG ou IgM aPL présents dans le plasma sont mis en évidence. Il s'agit d'un test global mettant en évidence des anticorps antiphospholipides sans permettre de connaître exactement leur spécificité ajoutée et avec un risque de perte de sensibilité [80] .

6.3. Bilan d'auto-immunité :

6.3.1. Electrophorèse sérique :

L'EPS est un examen de biologie médicale qui a pour but la séparation et l'analyse des protéines sériques. Elle est fondée sur le principe du déplacement des protéines dans un

champ électrique dans des conditions définies de force ionique, de pH et de courant électrique appliqué [81].

L'EPS permet la séparation de six fractions de protéines : albumine, α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , γ -globulines.

La quantification est possible à partir du dosage des protéines totales et de la détermination des pourcentages des fractions protéiques.

Elle était traditionnellement réalisée sur gel d'agarose. Cependant l'électrophorèse capillaire en veine liquide est de plus en plus utilisée car elle est automatisée [82, 83]. Elle est plus sensible que le gel d'agarose pour la détection d'une immunoglobuline monoclonale [84] .

6.3.2. Anticorps anti-ADN natif :

Cet examen mesure la quantité d'anticorps anti-ADN double brin présent dans le sang. Ce sont des auto-anticorps produits lorsque le système immunitaire d'une personne ne parvient pas à faire la distinction entre les composants cellulaires du "soi" et du "non soi". Ils attaquent le propre matériel de l'organisme, provoquant une inflammation, des lésions tissulaires, et d'autres signes et symptômes qui sont associés à une maladie auto-immune.

Ils sont identifiés par des techniques immunoenzymatiques (ELISA), radioimmunologique (test de Farr) ou en immunofluorescence (Crithidia luciliae) [85] .

6.3.3. le test de Coombs direct :

Le test de Coombs direct ou test direct à l'antiglobuline correspond à la mise en évidence de la présence, à la surface des globules rouges du patient, d'antigènes particuliers.

Dans un premier temps, le test est réalisé avec un mélange de plusieurs catégories d'anticorps (immunoglobulines G, A et M, fractions du complément). Si le test est positif, le test de Coombs est renouvelé pour chaque catégorie d'anticorps pour déterminer la nature exacte des auto-anticorps qui sont ensuite dosés [86].

CHAPITRE V : **DIAGNOSTIQUE ETIOLOGIQUE**

I. L'interrogatoire :

L'interrogatoire est indispensable pour préciser les antécédents du patient ; ceci permettra de porter les diagnostics de thrombopénie centrale ou périphérique.

- La prise médicamenteuse et en particulier tout traitement reçu dans les 3 mois précédents l'épisode.
- La recherche d'antécédents familiaux de thrombopénie est systématique même si les thrombopénies constitutionnelles sont rares.

L'existence d'une infection récente virale sera recherchée essentiellement les infections par le VIH ou le VHC.

- L'histoire de la thrombopénie et du syndrome hémorragique sera relevée : mode de découverte, circonstances d'apparition du syndrome hémorragique, symptômes associés pouvant orienter vers l'étiologie.
- La recherche de numérations antérieures si disponible est précieuse pour dater la thrombopénie (connaître la thrombopénie initiale permet de connaître s'il y a une consommation des plaquettes même si cette baisse est restée dans les normes).
- La prise d'anticoagulant ou d'aspirine aggravera les symptômes hémorragiques [87].

II. Thrombopénies périphériques:

1. La destruction immunologique :

1.1. Le purpura thrombopénique auto-immunologique (PTAI) :

Le purpura thrombopénique immunologique (PTI) est une maladie auto-immune (MAI) plurifactorielle, caractérisée par une destruction périphérique des plaquettes d'origine immunologique. Cependant, alors que le taux de plaquettes est bas, la production médullaire n'est pas toujours augmentée, traduisant une implication centrale dans sa physiopathologie. La physiopathologie du PTI est complexe, associant des anomalies centrales de production plaquettaire, insuffisante en réponse à la thrombopénie périphérique, à une réponse immunitaire humorale et cellulaire inadaptée. Les cibles antigéniques principales des auto-Ac sont les glycoprotéines (GP) plaquettaires, dont les complexes GPIIb/IIIa (récepteur du fibrinogène), GPIb/IX (récepteur du facteur von Willebrand) et GPIa/IIa (récepteur du collagène). L'environnement et le terrain génétique interviennent dans la genèse de la pathologie, bien que le facteur déclenchant initial soit inconnu. De plus, cette réponse auto-immune est induite, et/ou entretenue, par un défaut de régulation de la réponse immunitaire. La destruction périphérique des plaquettes a longtemps fait supposer que leur production médullaire était augmentée. En fait, la quantité de mégacaryocytes est normale ou augmentée, avec une production plaquettaire qui reste normale mais inadaptée. Plusieurs mécanismes participent à ces anomalies. Le mécanisme le plus important est la diminution de la production et de maturation des plaquettes par la fixation des auto-Ac sur les complexes glycoprotéiques GPIIb/IIIa et GPIb/IX à surface des mégacaryocytes. La prédominance de la maladie chez les femmes et dans la tranche d'âge des 18–40 ans [88].

Le diagnostic biologique repose sur la mise en évidence d'IgG spécifiques anti-GPIIb/IIIa et GPIb par le test (MAIPA). Dans 75% des cas, on retrouve des anticorps fixés et des anticorps circulants sont mis en évidence dans 50% des cas [89]. Le diagnostic biologique n'est pas nécessaire pour la confirmation du PTI et les tests biologiques négatifs n'éliminent pas le diagnostic [160].

1.2. La thrombopénie des maladies auto-immune :

Syndromes des antiphospholipides caractérisés par la présence d'anticorps antiphospholipides peuvent être de nature primaire ou secondaire comme dans le cadre du lupus érythémateux disséminé [4]. Il est maintenant établi que les anticorps associés au syndrome des antiphospholipides reconnaissent deux protéines plasmatiques à savoir la β 2-GPI et la prothrombine. Ces dernières peuvent être isolées ou complexées à des phospholipides anioniques. Ces antiphospholipides sont représentés par :

- Les lupus anticoagulants qui sont dirigés contre l'une ou l'autre de ces protéines.
- Les anti-cardiolipine et les anti- β 2 -GPI qui sont essentiellement spécifiques de la β 2 -GPI . Leur isotype est essentiellement Ig G. L'isotype Ig M est rare et presque toujours associé à l'isotype Ig G.
- D'autres anticorps ont été décrits au cours du SAPL : anti-phosphatidyléthanolamine, antiprothrombine, anti-annexine V [4,90]. Pour les anti-phosphatidyléthanolamine, l'isotype Ig M est le plus fréquemment retrouvé seul ou en association avec des Ig G [91].

Le diagnostic d'un syndrome des antiphospholipides nécessite la recherche de deux critères biologiques que sont les lupus anticoagulants (par une combinaison de tests),et les anticorps anticardiolipine (par technique d' ELISA) .La principale caractéristique de ces anticorps est leur persistance au cours du temps [91].

1.3. La thrombopénie médicamenteuse (immuno-allergique) :

la majorité des médicaments induisent une thrombopénie par accélération de la destruction des plaquettes le plus souvent dans le cas d'un phénomène immun, plus rarement dans le cadre d'un phénomène non immun .[92,93]

Les formes les plus fréquentes sont les formes immunes liées à un anticorps et dans ces conditions là, la chute plaquettaire survient une à deux semaines après le début du traitement. Les données épidémiologiques évaluent qu' environ 10 patients par million sont atteints d'une thrombopénie immune médicamenteuse par an [94]. Mais cette incidence est probablement plus forte chez les patients âgés, les patients hospitalisés surtout dans des conditions sévères comme les patients de réanimation qui sont plus souvent à même d'être exposés à plusieurs types de médicaments. Deux types de médicaments comme les sulfamides ou les quinine-quinidines seraient responsables respectivement de 36 et 28 thrombopénies par million de semaines d'exposition [95].

Le groupe de James Georges a trouvé une liste des molécules pour lesquelles les anticorps ont pu être mis en évidence. C'est à eux aussi que l'on doit un score permettant de reconnaître l'imputabilité de la drogue selon 4 critères :

- critère 1 : le traitement avec la molécule candidate précède l'apparition de la thrombopénie
- critère2 : récupération de la thrombopénie complète et stabilité après arrêt de la molécule candidate,

- critère 2 bis : la molécule candidate était la seule molécule utilisée avant le développement de la thrombopénie ou d'autres molécules ont été continuées ou réintroduites après arrêt du traitement avec la molécule coupable sans affectation du chiffre plaquettaire resté normal,

- critère 3 : les autres causes de thrombopénie ont été exclues

- critère 4 : une réexposition à la molécule candidate induit une récurrence de la thrombopénie.

Lorsque les critères 1, 2,3 et 4 sont réunis l'imputabilité est définitive avec un niveau d'évidence 1. Lorsque les critères 1, 2,3 mais pas le 4 sont réunis l'imputabilité probable avec un niveau d'évidence 2.

Lorsque seul le critère 1 est présent l'imputabilité est possible. Lorsque le critère 1 n'est pas présent l'imputabilité est très peu probable .

Tableau :Critères d'imputabilité d'une thrombopénie médicamenteuse idiosyncrasique.

Critères

- Prise médicamenteuse ayant précédé la thrombopénie et Disparition complète et prolongée de la thrombopénie après arrêt du médicament
- Prescription unique du médicament en question ou Autres médicaments maintenus ou réintroduits avec maintien d'un nombre normal de plaquettes
- Exclusion d'autres causes de thrombopénie
- Récurrence de la thrombopénie après réintroduction du médicament

Niveaux d'évidence

I. Certain (critères 1, 2, 3 et 4 présents)

II. Probable (critères 1, 2 et 3 présents)

III. Possible (critère 1 présent)

IV. Peu probable (critère 1 absent)

Tableau 4 : Critères d'imputabilité d'une thrombopénie médicamenteuse idiosyncrasique [M].

La liste des classes thérapeutiques ainsi que les molécules individuelles qui ont été rapportées entre 1998 et 2008 pour être associées à des thrombopénies sont introduites dans le tableau . Il est à noter que la cause n'est pas toujours unique par exemple les molécules contenant du platine utilisées en chimiothérapie des cancers ont un effet myelosuppressif donc thrombopéniant connu mais en plus il vient d'être montré qu'elles pouvaient induire des thrombopénies immuno-allergiques [95], on a l'habitude de distinguer 6 mécanismes :

Mécanisme	les molécules
Les anticorps induits par un haptène	la pénicilline , la pipericilline, les céphalosporines
Les thrombopénies de type quinine-quinidine	sulfonamides
Les thrombopénies induites par les séquences RGD mimétiques	Eptifibatide, tirofiban, Lotrafiban
anticorps thrombopéniant	l'abciximab
auto anticorps	la procainamide, la pénicillamine, le sulfaméthoxazol, la L-dopa [46] et surtout les sels d'or
le complexe immune	Héparine

Tableau 5 : les mécanisme immuno-allergiques des médicaments thrombopéniant (original).

1.3.1. Les anticorps induits par un haptène :

le type en est les antibiotiques de type pénicilline ou céphalosporine. La macro-molécule se fixe sur la plaquette et l'anticorps reconnaît le complexe formé par la plaquette par liaison covalente à l'antigène. Ce mécanisme n'est pas le mécanisme principal des thrombopénies. De rares cas ont été rapportés avec la pénicilline [96], la pipericilline [97], les céphalosporines [98,99].

1.3.2. Les thrombopénies de type quinine-quinidine :

le mode d'action est assez différent, il semble que pour ce type de thrombopénie induite par la quinine, la quinidine, la rifampicine, la ranitidine... soient impliquées des immunoglobulines naturelles préexistantes, ayant une relativement faible affinité pour les glycoprotéines de membrane plaquettaire. Si les molécules médicamenteuses en question se fixent sur les glycoprotéines, elles induisent un changement conformationnel de la séquence variable de l'immunoglobuline de telle façon qu'elles la rendent beaucoup plus affine pour l'antigène membranaire plaquettaire induisant la liaison de l'anticorps en présence de la molécule aux plaquettes dans des concentrations stoichiométriques relativement étroites [100,101].

La grande majorité de ces anticorps se lient aux glycoprotéines GPIIb/IIIa ou GP Ib/IX. Des domaines spécifiques de GP Ib/IX et de GP IIIa [102] semblent être les cibles privilégiées des anticorps induits par la quinine, la quinidine, la rifampicine, la ranitidine.

1.3.3. Les thrombopénies induites par les séquences RGD mimétiques :

la séquence RGD est une séquence assez universelle de liaison protéique et en particulier elle est impliquée dans la liaison du fibrinogène aux glycoprotéines de membrane plaquettaire du groupe GPIIb/IIIa. Une classe thérapeutique est née de cette constatation avec 2 molécules commercialisées et largement utilisées, une petite molécule synthétique imitant un résidu RGD le tirofiban et un peptido-mimétique cyclique reprenant la séquence RDG : l'éptifibatide. Le type de ces anticorps n'est entièrement déterminé mais il apparaît que ces anticorps ne reconnaissent pas GPIIb/IIIa lié à la séquence peptidique. L'hypothèse la plus probable étant que la séquence peptidique entraîne une modification conformationnelle de

GPIIb/IIIa qui le rende affiné pour des anticorps probablement là encore des anticorps naturels mais la séquence RGD mimétique n'est pas impliquée au moment de la liaison.

Ce type de mode d'action expliquerait la survenue très précoce des thrombopénies à l'induction du traitement [103,104]. La fréquence de ces anticorps naturels est estimée par la fréquence des thrombopénies à 0.1 à 2% de la population.

1.3.4. Les thrombopénies induites par l'abciximab :

L'abciximab est un anticorps monoclonal de souris secondairement humanisé qui reconnaît spécifiquement, une boucle peptidique du domaine bêta A de la GP IIIa [105]. Environ 2% des patients recevant de l'abciximab pour la première fois [106] et 10-12% des patients ayant une réintroduction [107] développent une thrombopénie. Les anticorps pathologiques reconnaissent les plaquettes normales ayant lié l'abciximab, mais il est difficile de reconnaître cet anticorps car il existe un deuxième type d'anticorps naturel développé contre le site de coupure par la papaïne de l'IgG murine [108]. Pour le mode d'action des anticorps thrombopéniants, plusieurs hypothèses pouvant se rencontrer sur différents types de patients ont été évoquées :

- des anticorps dirigés contre des épitopes murins persistant sur l'anticorps monoclonal d'origine murine,
- des modifications conformationnelles de GPIIb/IIIa par l'abciximab, d'une façon assez similaire à ce qui vient d'être décrit pour les RGD mimétiques
- et enfin des formations spécifiques d'anticorps dirigés contre le complexe abciximab-GPIIb/IIIa apparaissant chez certains patients dont le développement de la thrombopénie n'est pas immédiat ou très rapide comme chez la majorité d'entre eux mais apparaissant dans un délai compatible avec la création d'une auto-immunité [109,110].

1.3.5. Les molécules responsables du développement d'auto anticorps :

Ces molécules sont la procaïnamide, la pénicillamine, le sulfaméthoxazol, la L-dopa [111] et surtout les sels d'or [112] prescrits pour la polyarthrite rhumatoïde. Le mode d'action n'est pas totalement compris : il apparaît probable que la molécule modifie le catabolisme des GP de membrane plaquettaire par le système macrophagique induisant la formation de peptides cryptiques non connus du système immunitaire, induisant une réaction contre la GP originelle [111]. A côté de ces molécules « classiques », il a été récemment décrit des formes à peu près similaires chez des patients traités par des anticorps monoclonaux pour des pathologies cancéreuses ou immunitaires comme par exemple l'Infliximab qui est un anticorps anti TNF-alpha, le Rituximab qui est un anticorps anti CD20, l'Etanercept qui est un anticorps récepteur au TNF-alpha et l'Efalizumab qui est un anticorps anti CD11a [113,114]. Il n'est pas établi si l'apparition des thrombopénies est liée à l'effet immunomodulateur de ces molécules.

1.3.6. La thrombopénie immunitaire liée à l'héparine :

La forme la plus fréquente est due à des anticorps formés contre le complexe héparine/PF4.

Classe médicamenteuse	Molécules (par ordre de fréquence de thrombopénie)	Hémorragies graves rapportées
Agents antalgiques et anti-inflammatoires	Acétaminophène, diclofénac, aspirine, méclofénamate, sulfasalazine, phénylbutazone, sulindac, ibuprofène	Aspirine
Agents anti-infectieux Quinine	rifampicine, cotrimoxazole, amphotéricine B, vancomycine, acide nalidixique, novobiocine, éthambutol, isoniazide, céphalotine, pipéracilline, méthicilline, tétracycline, fluconazole, ampicilline, fucidine, linézolide	Cotrimoxazole, quinine, quinidine, rifampicine, vancomycine, éthambutol, ampicilline
Agents psychotropes et antiépileptiques	Thiothixène, diazépam, halopéridol, chlorpromazine, carbamazépine, clozapine	
Agents à visée cardiovasculaire Héparine	tirofiban, eptifibatide, abciximab, amiodarone, diurétiques thiazidiques, amrinone, alprénolol, procaïnamide, captopril	
Autres	Méthylidopa, danazol, aminoglutéthimide, lévamisole, cimétidine, interféron alpha, acide iopanoïque, tamoxifène, lithium, déféroxamine, nitroglycérine, minoxidil, diazoxide	sels d'or, ranitidine, glibenclamide, bortézomide Sels d'or, aminoglutéthimide

Tableau 6 : Molécules impliquées dans les thrombopénies immunitaires liées aux médicaments [N].

1.4.Thrombopénies induites par l'héparine (TIH) : [115]

La thrombopénie induite par l'héparine est une complication immuno-allergique médicamenteuse qui représente la cause la plus importante de thrombopénies chez les patients hospitalisés. Elles se voient chez environ 1 à 5 % des patients sous héparine non fractionnée (HNF), beaucoup plus rarement (0,1 à 0,5 %) avec les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) . En fait, il faut distinguer les thrombopénies induites par l'héparine de type I qui sont précoces (1 à 2 jours de traitement), modérées et passagères, et celles de type II qui apparaissent habituellement entre le 5e et le 21e jour de traitement et qui peuvent se compliquer d'accidents thrombotiques artériels et/ou veineux parfois très sévères voire mortels.

1.4.1. La classification :

➤ La thrombopénie de type I :

Non immune, survient dans 10 à 20 % des cas, elle est précoce (les deux premiers jours suivant le début de l'héparine), habituellement asymptomatique (sans aucune complication thrombotique) et régresse malgré la poursuite de traitement par l'héparine. La thrombopénie est modérée, et passe souvent inaperçue (les plaquettes diminuent rarement en deçà de 100 Giga/L). Elle est due à une potentialisation de l'activation des récepteurs à l'ADP en présence des longues chaînes polysaccharidiques et une liaison accrue du fibrinogène à la surface plaquettaire, et faciliterait leur élimination par la rate. En fait, passant souvent inaperçue, sa fréquence et son mécanisme physiopathogénique restent mal connus.

➤ La thrombopénie de type II :

est plus rare, survient dans 1 à 5 % des cas avec les HNF et dans 0,1 à 0,2 % des cas avec les HBPM, elle est retardée (entre le 5e et le 21e jour et exceptionnellement après la 3e semaine suivant le début de l'héparine). Une chute plus précoce au 2e ou 3e jour du traitement est possible en cas d'administration récente d'héparine datant de moins de 3 mois. La thrombopénie induite par l'héparine de type II peut être potentiellement grave (complications thrombotiques veineuses et/ou artérielles) imposant l'arrêt immédiat de l'héparine.

La thrombopénie est plus marquée avec une réduction de plus de 30 % à 50 % de la numération plaquettaire initiale, et résulte d'un mécanisme immuno-allergique.

Le terme de thrombopénie induite par l'héparine (TIH) est retenu pour qualifier la thrombopénie de type II qu'elle survienne sous héparine non fractionnée ou héparine de bas poids moléculaire.

1.4.2. Physiopathologie de TIH type II:

Les TIH sont liées à des immunoglobulines héparine-dépendantes réagissant avec un antigène plaquettaire dont la nature est longtemps restée méconnue. En 1994, il a été établi que cet antigène plaquettaire est un complexe entre le facteur plaquettaire 4 et l'héparine (PF4-H) . Le PF4 est une chemokine de nature protidique, normalement présent dans les granules α plaquettaires et qui se lie à l'héparane-sulfate à la surface de l'endothélium vasculaire.

Dans un premier temps, les phénomènes inflammatoires et/ou les phénomènes d'activation plaquettaire relatifs aux différents contextes médicaux ou chirurgicaux, accroissent la libération de PF4 et favorisent la formation de complexes héparine/PF4. En effet, l'héparine s'enroule autour du PF4 en réagissant avec les divers sites d'interaction. Le PF4 subit alors une modification structurale qui transforme ou masque de nombreux motifs antigéniques et fait apparaître des néo-antigènes. La structure antigénique de ces complexes PF4-H requiert la présence de PF4 sous forme tétramérique et un rapport bien déterminé entre les concentrations de ces deux molécules.

Ce rapport varie selon l'héparine utilisée, son degré de sulfatation et la longueur des chaînes oligosaccharidiques expliquant ainsi l'immunogénicité plus faible et la moindre fréquence des TIH avec les HBPM. Ces complexes macromoléculaires formés peuvent devenir immunogènes et induiraient dans 85 % des cas la formation d'autoanticorps anti-PF4-H de classe IgG surtout, mais aussi IgM ou IgA .

La liaison des immunoglobulines de nature IgG aux complexes PF4-H augmente l'affinité des fragments Fc des IgG pour leurs récepteurs. En se fixant au récepteur RFcγII-A ou CD32 de la membrane plaquettaire d'une part, et au complexe PF4-H d'autre part, ces anticorps entraînent alors une activation plaquettaire : agrégation et libération d'une quantité importante de microparticules procoagulantes avec exposition des phospholipides anioniques nécessaires pour la coagulation, ainsi que d'une plus grande quantité de PF4, ce qui augmente la génération de thrombine et donc la survenue de thromboses .

La thrombopénie concomitante est donc le fait d'une consommation plaquettaire.

Le PF4 libéré par les plaquettes activées se fixe tout naturellement sur les molécules d'héparane sulfate présentes de manière constitutive à la surface des cellules de l'endothélium vasculaire. La fixation des anticorps anti-PF4 sur les complexes PF4-héparane sulfate peut léser l'endothélium vasculaire et active l'expression du facteur tissulaire ce qui entraîne une activation de la coagulation [10]. Cette activation peut aboutir dans les cas extrêmes, heureusement rares, à une authentique coagulation intra vasculaire disséminée.

Ces IgG peuvent se fixer également à d'autres récepteurs cellulaires de forte affinité situés sur la membrane cellulaire des macrophages et des monocytes, et à des récepteurs de plus faible affinité sur les neutrophiles, les éosinophiles, des lymphocytes T, les monocytes, et certaines cellules NK permettant l'activation de ces cellules et l'élimination des plaquettes. La mise en évidence d'IgG anti-PF4-H chez 10 à 25 % des patients recevant de l'héparine sous circulation extra corporelle, sans TIH clinique, a toutefois posé la question du potentiel pathogène de ces anticorps . En effet, environ 1/3 à 1/5 des patients ayant des anticorps anti-PF4-H vont développer une thrombopénie et parmi ceux-ci, 30 à 60 % font des complications thrombotiques .

1.4.3.Fréquence et manifestations cliniques de TIH type II :

La TIH survient dans 1 à 5 % des traitements par héparine non fractionnée (HNF) et dans 0,1 à 0,5 % en cas d'héparine de bas poids moléculaire (HBPM) . La fréquence des TIH chez les patients traités par HNF est plus élevée en milieu chirurgical notamment en chirurgie cardiaque et orthopédique (environ 3 %) qu'en milieu médical (0,25 à 1 % selon les séries) où

la survenue des TIH peut être favorisée par la pathologie sous jacente : diabète, lupus ou syndrome primitif des anti-phospholipides, cancer, sepsis . Le tableau 6 fait la synthèse de l'incidence des TIH en fonction du contexte clinique et du type d'héparine utilisée. Les TIH se compliquent de thromboses dans environ 30 à 70 % des cas, avec une mortalité de 20 %. Il peut s'agir d'une extension de la thrombose initiale ou d'une thrombose sur un nouveau site artériel ou veineux.

➤ Les thromboses veineuses profondes

se voient chez près de 50 % des patients avec TIH, elles peuvent se compliquer d'embolies pulmonaires parfois mortelles, ce qui justifie leur recherche systématique. Ces thromboses paradoxales sous héparinothérapie bien conduite doivent évoquer d'emblée une TIH, d'autant qu'il y a souvent une baisse concomitante du taux de plaquettes. Les thromboses veineuses peuvent concerner tous les territoires, parfois des localisations insolites (veines abdominales, cérébrales). Elles peuvent aussi être multifocales. Il peut aussi survenir un infarctus veineux surrénalien ou une gangrène des membres inférieurs d'origine veineuse précipitée par un relais anticoagulant oral précoce ou intense . Ceci s'explique par le fait que les AVK provoquent une chute des inhibiteurs de la coagulation vitamine-K dépendants (protéines C et S) aggravant ainsi les phénomènes thrombotiques dans un contexte de coagulation intense.

➤ Les thromboses artérielles :

sont moins fréquentes (15 à 30 %) mais peuvent être particulièrement graves, touchant les gros troncs vasculaires avec prédilection pour l'aorte abdominale et ses branches. La survenue d'accidents vasculaires cérébraux ischémiques ou d'infarctus du myocarde peut mettre en jeu le pronostic vital .

➤ Les manifestations hémorragiques :

sont rares (10 % des cas) car la thrombopénie est rarement profonde. Les TIH peuvent se compliquer, rarement, de coagulation intra vasculaire.

➤ L'atteinte cutanée :

il peut s'agir de plaques érythémateuses ou prurigineuses, d'urticaire localisé ou diffus, de livedo reticularis, voire de véritables nécroses cutanées au point d'injection de l'héparine qui peuvent être inaugurales précédant la thrombopénie. Elles peuvent avoir une distribution centrale (thorax, sein, abdomen) et nécessiter une greffe cutanée.

➤ Les réactions systémiques :

(fièvre, douleurs abdominales, détresse respiratoire, flush, amnésie aiguë,...) sont rares mais graves.

1.4.4. Diagnostic :

Le diagnostic de TIH repose sur une évaluation clinique et biologique et doit être suspecté avant même la survenue des complications thrombotiques. L'apparition d'une thrombopénie absolue inférieure à 100 Giga/L ou relative avec chute des plaquettes supérieure ou égale à 30 %-50 % de la valeur initiale est généralement le premier signe de l'apparition d'une TIH. Le

délai de survenue de la thrombopénie est typiquement de 5 à 8 jours, après le début du traitement. Cependant, ce délai peut être raccourci à 2 ou 3 jours chez des patients ayant été exposés à l'héparine dans les 3 mois précédents, il peut aussi être plus long, notamment avec les HBPM, pouvant excéder 3 semaines. Le critère diagnostique le plus simple est la remontée des plaquettes dans les dix jours suivant l'arrêt de l'héparine, mais il faut noter que dans environ 10 % des cas le taux des plaquettes reste supérieur à 150 Giga/L au cours d'authentiques TIH. En cas de complication thromboembolique survenant sous héparine, sans thrombopénie vraie, il faut aussi envisager ce diagnostic : la résistance clinique à l'héparine est une TIH jusqu'à preuve du contraire. Le score diagnostique « 4T » permet d'évaluer la probabilité de survenue de TIH indépendamment des tests biologiques. Ce test prend en considération la baisse du taux de plaquettes, le délai de survenue de la thrombopénie, la possibilité ou non d'une autre cause de thrombopénie, et la survenue de thromboses ou autre manifestation clinique évoquant une TIH. La probabilité est élevée pour un score de 6 à 8, intermédiaire si le score est de 4-5, faible s'il est compris entre 0 et 3.

Le diagnostic rétrospectif de TIH est aussi d'une importance capitale et une relecture du dossier doit être réalisée à distance de la phase aiguë pour confirmer une TIH ou à l'inverse exclure une TIH. En effet, diagnostiquer faussement une TIH compliquera ultérieurement si c'est nécessaire la prise en charge d'un traitement anticoagulant, les héparines étant alors exclues. Des scores rétrospectifs sont également utilisés par les équipes de pharmacovigilance pour estimer la probabilité du diagnostic de TIH.

Ces scores rétrospectifs prennent en compte notamment l'évolution dans le temps du taux de plaquettes après arrêt de l'héparine, une éventuelle récurrence de la thrombopénie à sa réintroduction. Un certificat médical est délivré au patient pour prévenir contre l'utilisation de l'héparine à l'avenir et une déclaration à la pharmacovigilance est nécessaire.

Le diagnostic biologique de la TIH reste difficile et comporte en premier lieu une confirmation de la réalité de la thrombopénie : éliminer une fausse thrombopénie à l'EDTA, contrôle sur tube citraté et/ou par prélèvement capillaire et un contrôle sur lame.

Il existe deux types de tests visant à apporter la preuve du conflit immuno-allergique qui caractérise la TIH, les tests fonctionnels et les tests immunologiques avec des avantages et des inconvénients spécifiques.

➤ **Les tests fonctionnels**

Ces tests mettent en évidence la présence dans le plasma ou le sérum du patient d'un facteur plasmatique héparine-dépendant capable d'induire une activation plaquettaire. Ces tests offrent une bonne spécificité mais leur sensibilité peut être prise en défaut au cours d'authentiques TIH. On distingue les tests suivants.

- Le test de relargage de la sérotonine marquée au carbone 14 : c'est le test de référence. Il consiste à mesurer la sécrétion de la C14-sérotonine par des plaquettes témoins lavées en présence d'héparine et du plasma du patient. Ce test présente une excellente spécificité qui peut avoisiner les 95 % ainsi qu'une sensibilité de 90 à 98 %. Cependant, il s'agit d'une technique longue, difficile à réaliser et qui nécessite l'utilisation d'isotopes radioactifs et de plaquettes rendant ce test réservé à quelques laboratoires spécialisés.

- Le test d'agrégation plaquettaire (TAP) :

Est le test fonctionnel le plus utilisé dans les laboratoires spécialisés. Il consiste à incuber le plasma du patient en présence de l'héparine et de plaquettes témoins. Le test est positif si des agrégats sont visualisés en lecture photométrique, et doit être négatif lorsque le plasma du malade ou l'héparine sont testés séparément avec les plaquettes-témoins. Il faut tester plusieurs concentrations (0,5 à 1 UI/ml) du lot d'héparine reçu par le patient. La spécificité de la réaction est augmentée lorsque la réaction d'agrégation est bloquée par une forte concentration d'héparine de 100 UI/ml. Ce test présente une spécificité qui peut atteindre 80 % à 90 %, mais sa sensibilité est comprise entre 35 et 85 % selon les conditions de sa réalisation ; les plaquettes témoins doivent être fraîches et comme leur réactivité est variable, il est nécessaire de tester plusieurs témoins (2 à 5 voire plus) et plusieurs concentrations d'héparine. Le TAP présente l'avantage d'être simple, peu coûteux à condition de disposer d'un agrégomètre, mais il est relativement long à réaliser. Une variante de ce test, l'étude de l'agrégation plaquettaire par impédancemétrie (appareil Multiplate, Dynabite) en sang total, a fait l'objet d'une étude qui a montré que cette technique était performante, comparée au test à la sérotonine radiomarquée .

- D'autres tests fonctionnels sont également proposés :

- La cytométrie en flux : recherche une expression membranaire d'antigènes témoins d'une activation plaquettaire (CD62 ou P-sélectine) ou une émission de microparticules phospholipidiques (annexine V).

- Mesure du relargage de l'ATP par les granules denses plaquettaires en cas d'activation immunologique héparine dépendante par chimiluminescence.

➤ Les tests immunologiques :

La recherche d'anticorps dirigés contre le complexe PF4-H est possible par :

- ELISA : ce test immunoenzymatique permet de détecter et quantifier en phase solide les trois isotypes IgG, IgM et IgA anti-PF4-H. Elle présente l'avantage d'être standardisée, accessible à tous les laboratoires et ne nécessite pas de plaquettes témoins. Cette technique, plus sensible et reproductible que les méthodes fonctionnelles est toutefois moins spécifique puisque 10 à 25 % des patients mis sous héparine à l'occasion d'une circulation extracorporelle présentent un taux élevé d'anticorps anti-PF4-H, et ce en dehors de toute manifestation de TIIH .

- Immunofiltration en gel : il s'agit d'un test strictement qualitatif, rapide et facile à réaliser en urgence, en particulier dans les laboratoires qui utilisent la technique du gel test sur carte pour les examens en immunohématologie. Des billes de polystyrène rouges sont sensibilisées par des complexes PF4-H et en cas de présence d'anticorps dans le sérum du patient ces billes s'agglutinent

L'établissement d'un diagnostic précis doit associer le score d'imputabilité 4T aux résultats des tests fonctionnels et des tests immunologiques qui sont complémentaires et ne devraient pas, idéalement, être dissociés .

1.5.Thrombopénies post-infectieuses :

Les thrombopénies infectieuses sont souvent d'origine virale. Elles sont aiguës et transitoires chez l'enfant (Rougeole, cytomégalovirus, Epstein-Barr , parvovirus...). Elles surviennent

une à trois semaines après le début de l'infection. Elles sont en général de caractère bénin et transitoire. Une thrombopénie chronique est une manifestation possible des infections par l'hépatite C et le virus de l'immunodéficience humaine VIH (50% des cas)[5]. En effet les plaquettes sont détruites par des anticorps anti-plaquettes en périphérie[116], en outre la majorité des patients présentant un sepsis développe une thrombopénie périphérique par :

- une agrégation des plaquettes au niveau de l'endothélium lésé ou la formation de complexes leucoplaquettaires : après contact entre plaquettes et bactéries, l'activation plaquettaire permet l'expression de glycoprotéines (P-sélectine, CD40L, GPIIb/IIIa). Les plaquettes vont réagir en s'agrégeant entre elles grâce aux interactions CD40/CD40L ou par l'intermédiaire du fibrinogène se fixant à la GPIIb/IIIa. Elles se lient également avec des cellules de l'environnement telles que les neutrophiles (en créant des agrégats neutroplaquettaires, dont l'avenir est de migrer et s'accumuler dans des organes distaux comme les poumons et le foie). Les plaquettes adhèrent aux cellules endothéliales *via* le CD40/CD40 ligand et vont être séquestrées dans la microvasculature ;
- une apoptose plaquettaire induite directement par les bactéries ;
- une phagocytose des plaquettes adhérentes *via* la GPIIb/IIIa aux cellules de Kupffer ou des macrophages circulants dans le but d'éliminer les bactéries [5]. Les macrophages participent à la thrombopénie induite lors du sepsis puisqu'ils phagocytent les plaquettes ayant opsonisé un complexe immun *via* le récepteur au fragment Fc des immunoglobulines (Fc_γRIIA)[117].

Thrombopénie	> 50 % ou nadir ≥ 20 Giga/l	2
	↓ 30 – 50 % ou nadir 10 – 19 Giga/l	1
	↓ < 30 % ou nadir < 10 Giga/L	0
« Timing » de la thrombopénie	j5-j10 ou ≤ j1 + exposition ≤ 30 j	2
	> j10 ou ≤ j1 + exposition 31 - 100 j ou timing incertain (NFS manquante) mais compatible	1
	< j4 sans exposition < 100	0
Thrombose ou signe clinique	Nouvelle thrombose documentée, nécrose cutanée Ou réaction systémique aiguë après bolus IV HNF	2
	Extension ou récurrence de thrombose ou thrombose suspectée non documentée Ou plaques érythémateuses au point d'injection	1
	Aucune	0
autre cause de Thrombopénie	Aucune évidente	2
	Possible	1
	Définie ²	0
Probabilité de TIH avant les tests en fonction du score total		
6-8 : élevée	4-5 : intermédiaire	0-3 : faible

Tableau 7 : Score des 4T de Warkentin (0)

1.6 . Incompatibilité plaquettaire et purpura post-transfusionnel :

Les plaquettes portent sur leur surface des antigènes spécifiquement plaquettaires human platelet antigen (HPA), l'antigène HPA-1a étant le plus fréquent. L'alloimmunisation plaquettaire est souvent associée aux anticorps anti-HLA. L'immunisation spécifique, dirigée contre des Ag HPA, est rare et peut entraîner un état réfractaire aux transfusions de plaquettes. L'anti-HPA-1a (ou PLA1) est parfois responsable d'un tableau clinique particulier, le purpura post-transfusionnel (PPT), caractérisé par une thrombopénie profonde, inférieure à $10^9/l$ et brutale apparaissant cinq à 12 jours après une transfusion de PSL (CGR ou CP), généralement chez les patients ayant des antécédents, même lointains, d'alloimmunisation par grossesse ou transfusion. La thrombopénie se manifeste par un purpura ecchymotique et pétéchial brutal. L'évolution hémorragique peut mettre en jeu le pronostic vital. Sans traitement, spontanément, la guérison survient entre deux et quatre semaines. Le diagnostic est biologique avec la détection d'un anti-HPA-1a. Seules les plaquettes phénotypées PLA-1a négatif permettent de corriger les hémorragies aiguës dans l'attente des résultats du traitement par les immunoglobulines polyvalentes. Plusieurs hypothèses sont émises pour expliquer le mécanisme de la destruction des propres plaquettes du receveur : fixation des complexes antigène—anticorps sur la membrane plaquettaire « témoin innocent », adsorption des antigènes HPA-1a sur les plaquettes du receveur, production d'autoanticorps antiplaquettes, production secondaire d'un anticorps à spécificité large. Tous les produits sanguins sont concernés [118,119].

1.7 . La thrombopénie de grossesse :

La survenue d'une thrombopénie est observée au cours de 10 % des grossesses. La numération plaquettaire diminue physiologiquement au cours de la grossesse, ainsi, une baisse du seuil de définition de la thrombopénie à $120 G/mm^3$ pourrait être discutée à l'approche du terme mais n'est pas validée. Les causes potentielles de thrombopénie au cours de la grossesse sont multiples, spécifiques ou non à l'état gestationnel.

Les causes potentielles de thrombopénie au cours de la grossesse sont multiples. Parmi elles, 3 causes principales se détachent, responsables de la quasi-totalité des cas de thrombopénie au cours de la grossesse. La plus fréquente est la thrombopénie gestationnelle idiopathique représentant 74 % des cas. Les syndromes obstétricaux thrombopéniants (pré-éclampsie, syndrome Hemolysis, Elevated Liver function tests, Low Platelet count (HELLP), stéatose aiguë gravidique) syndrome sont la deuxième cause, responsable de 21 % des cas. Les microangiopathies thrombotiques : le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) et le syndrome hémolytique et urémique (SHU). En dehors du PTI qui peut être observé dès le premier trimestre, les autres étiologies ne sont habituellement observées qu'à la fin du deuxième trimestre, voire parfois uniquement en fin de grossesse ou en post-partum pour certaines d'entre elles même s'il existe des exceptions à ces règles.

Cette pathologie bénigne dépourvue de risque hémorragique et ne nécessitant aucun traitement est de loin la plus fréquente cause des thrombopénies observées au cours de la grossesse puisqu'elle rendrait compte de trois quarts des situations. Elle serait liée à une hémodilution gravidique et à une consommation des plaquettes au niveau du placenta. Il n'y a pas de thrombopathie associée. Environ 4 à 8 % des femmes enceintes développent ce type de thrombopénie qui survient habituellement au cours du troisième trimestre de grossesse. La

baisse des plaquettes est ici modérée (plaquettes habituellement supérieures à 75 G/L), il n'y a donc pas de manifestation hémorragique. Si des numérations antérieures sont disponibles, l'absence de thrombopénie avant la grossesse ou lors des deux premiers trimestres de la gestation en cours viendra confirmer le diagnostic. Cette thrombopénie n'est pas transmise à l'enfant qui naît avec un compte de plaquettes normal, elle disparaîtra en post-partum en quelques semaines mais aura tendance à récidiver lors des grossesses suivantes. Il est ainsi très important de ne pas oublier de contrôler le chiffre de plaquettes à distance de l'accouchement car la normalisation spontanée du chiffre de plaquettes permet de confirmer rétrospectivement le diagnostic de thrombopénie gestationnelle et de simplifier ainsi la prise en charge diagnostique en cas de récurrence de la thrombopénie lors d'éventuelles grossesses ultérieures [120, 121].

1.8 . La thrombopénie neonatal allo-immune :

Les thrombopénies fœtales et néonatales allo-immunes (TNAI) sont les plus fréquentes des thrombopénies sévères du fœtus et du nouveau-né. Elles résultent de l'immunisation maternelle vis-à-vis d'antigènes plaquettaires fœtaux que la mère ne possède pas. Ces thrombopénies sont considérées comme l'équivalent plaquettaire de la maladie hémolytique du nouveau-né, cependant plusieurs éléments l'en distinguent dont l'atteinte possible du premier enfant.

Elles résultent de l'immunisation maternelle vis-à-vis d'antigènes spécifiquement plaquettaires fœtaux, antigènes des systèmes humains de la plaquette alloantigène (HPA) que la mère ne possède pas. Bien que les plaquettes expriment à leur surface les antigènes HLA de classe I et les antigènes des groupes sanguins A et B, l'immunisation maternelle vis-à-vis de ces antigènes n'est pas reconnue être à l'origine des TNAI.

Le transfert trans placentaire des anticorps maternels IgG a lieu dès 14 semaines de gestation et, les antigènes plaquettaires étant bien exprimés dès 16 à 18 semaines, les plaquettes fœtales recouvertes d'anticorps vont être alors détruites. Cela explique la possibilité de thrombopénie fœtale très tôt pendant la grossesse [122].

2. consommation et activation plaquettaire :

2.1. La coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) :

(CIVD) est un syndrome acquis secondaire à une activation systémique et excessive de la coagulation. Ce syndrome se définit par l'association d'anomalies biologiques avec ou sans signes cliniques témoins de la formation exagérée de thrombine et de fibrine, et de la consommation excessive de plaquettes et de facteurs de la coagulation. La CIVD s'inclut dans un processus complexe qui commence par un syndrome d'activation systémique de la coagulation (SASC) difficile à mettre en évidence. Il se poursuit par l'apparition de troubles patents biologiques puis cliniques de l'hémostase qui peuvent engager le pronostic vital. Malgré leur hétérogénéité leur principal mécanisme est le contact du facteur tissulaire (FT) au facteur VII activé (FVIIa) et la génération de thrombine [123].

2.2. Microangiopathies thrombotiques (MAT) :

Le terme de microangiopathie thrombotique (MAT) définit un syndrome regroupant différentes pathologies caractérisées par l'association d'une anémie hémolytique mécanique, d'une thrombopénie périphérique de consommation, et de défaillances d'organe de sévérité

variable. Parmi ces pathologies, on distingue le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), forme particulièrement grave pouvant aboutir à une défaillance multiviscérale, et le syndrome hémolytique et urémique (SHU), où l'atteinte rénale est prédominante. Un syndrome de MAT peut également s'observer au cours des situations suivantes : HELLP syndrome (Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count), cancers, greffes, infection par le virus de l'immunodéficience humaine, syndrome catastrophique des antiphospholipides, ou coagulation intravasculaire disséminée sévère[124].

2.2.1. Syndrome moschowitz (PTT):

Le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) est une microangiopathie thrombotique (MAT) associée à cinq manifestations principales rapportées par Moschowitz dès 1924 : l'anémie hémolytique mécanique, la thrombocytopénie, la fièvre, l'atteinte rénale et l'atteinte neurologique. La physiopathologie de la microangiopathie s'explique par l'accumulation de multimères de facteur Willebrand (VWF) de très haut poids moléculaire (THPM-VWF) sécrétés de façon constitutive, ou après stimuli, par les cellules endothéliales et les plaquettes. Ces multimères sont de puissants inducteurs de l'adhésion plaquettaire à l'endothélium lésé, notamment en cas de forces de cisaillement (shear-stress). Ils induisent la formation dans les microvaisseaux de microthrombi diffus riches en VWF et en plaquettes et pauvres en fibrine. La conséquence directe de ces microthromboses est une souffrance viscérale diffuse de sévérité variable. L'identification d'une métalloprotéase plasmatique responsable spécifiquement du clivage de ces THPM-VWF a permis de progresser dans la compréhension des mécanismes du PTT. Cette enzyme appartient à la famille des protéases disintégrine et metalloproteinase avec des motifs thrombospondine-I (ADAMTS). Il est maintenant établi que la plupart des patients atteints de PTT présentent un déficit sévère en ADAMTS-13 inférieur à 5% de l'activité normale alors que le déficit est modéré, voire inexistant dans les autres formes de MAT[125].

2.2.2. Syndrome hémolytique et urémique :

Le SHU est défini par une triade associant une anémie hémolytique mécanique effondrée, élévation des LDH, présence de schizocytes sur le frottis sanguin), une thrombopénie (plaquettes inférieures à 150 g/L) et une insuffisance rénale aiguë. Il est dû à des lésions de MAT caractérisées par des thrombus fibrinoplaquettaires dans les capillaires et/ou les artérioles rénales. L'histologie d'une MAT rénale est définie par l'existence de thromboses artériolaires ou glomérulaires ou de lésions des artérioles ou des artères interlobulaires. Le SHU est une pathologie rare et fréquemment Chez l'enfant, le SHU est le plus souvent secondaire à une infection à E. coli O157-H7, sécréteur de vérotoxine ; cette forme de SHU de l'enfant est appelée classiquement «SHU typique ». Les formes qui ne sont pas associées à une infection bactérienne (pneumocoque, STEC, Shigelle, etc.) et pour lesquelles aucune cause n'est identifiée sont appelées SHU atypique. À l'inverse, chez l'adulte, le SHU est rarement associé à une infection à STEC (escherichia coli producteur de shiga toxine). Les causes habituelles du SHU de l'adulte sont les infections (pneumocoque, CMV, VIH), les médicaments et les toxiques (gemcitabine, ciclosporine), les maladies systémiques (lupus) et les néoplasies (cancer de la prostate, lymphome). Le diagnostic est parfois difficile devant la grande similitude des manifestations cliniques associées aux différentes formes de MAT [126].

2.3. Le syndrome de Kasabach-Merritt

le syndrome de Kasabach-Merritt peut se définir par l'association d'une tumeur vasculaire rouge-violacée, rapidement extensive, d'une thrombopénie, d'un degré variable de coagulation intra-vasculaire disséminée et parfois d'une anémie. Il survient habituellement chez un nouveau-né ou un nourrisson de moins de 6 mois. .

Le mécanisme physiopathologique principale est une séquestration plaquettaire au sein des vaisseaux, liée à un endothélium anormal et proliférant . Différents marqueurs immunohistochimiques des plaquettes ont été utilisés pour confirmer cette séquestration, en particulier l'anticorps anti- CD 61 . Cette séquestration plaquettaire entraînerait une activation plaquettaire et une consommation des facteurs de coagulation, à l'origine de la CIVD. Celle-ci pourrait favoriser la survenue de thromboses et d'hémorragies intra-tumorales[127].

3. Thrombopénies par anomalie de répartition :

3.1. Thrombopénie par séquestration :(hypersplénisme):

A l'état normal , 1/3 des plaquettes est séquestré dans la rate , et dans le cas d' un hypersplénisme, il ya augmentation de la séquestration splénique des éléments figurés du sang avec cytopénies .Les thrombopénies dans ce contexte sont en général modérées : 50 à 150 G/L. Elles sont en général associées à une neutropénie ou une anémie par hémodilution. La durée de vie des plaquettes est normale [5].

3.2. Thrombopénie de dilution : (Transfusion massive) :

Le traitement des patients présentant des pertes sanguines massives par les solutés de remplissage (cristalloïdes et colloïdes) et les concentrés de globules rouges qui contiennent une quantité négligeable de plaquettes. En conséquence, la transfusion et le remplissage massifs associés à la persistance de l'hémorragie peuvent s'accompagner d'une coagulopathie de consommation et d'une dilution des plaquettes. S'il est difficile de modéliser l'évolution des paramètres de coagulation et en particulier du chiffre de plaquettes en fonction du volume transfusé [128 ,129].

II. Thrombopénie centrale :

1. Deficit quantitatif de la thrombopénie :

1.1 Avec insuffisance de plusieurs lignes :

1.1.1. Envahissement médullaire :

On définit les insuffisances médullaires par un défaut de production des cellules matures myéloïdes qui doivent circuler dans le sang. Cela implique une double conséquence, d'une part une pancytopenie (anémie , leucopénie et thrombopénie), et d'autre part l'absence de signe de régénération .

Les insuffisances médullaires secondaires à un envahissement peuvent se voir au cours des leucémies (LAL , LAM , LMC), des sarcomes ou de la maladie de Hodgkin et au cours des métastases osseuses de cancers. Le myélogramme décèle l'expansion tumorale au sein du tissu myéloïde [130].

1.1.2. Moelle osseuse aplasique :

L'aplasie médullaire (AM) est un déficit de production des cellules sanguines responsable d'anémie arégénérative, de thrombopénie avec syndrome hémorragique cutanéomuqueux spontané et de leuconéutropénie à l'origine d'infections. Par définition, l'AM est liée à une insuffisance quantitative de l'hématopoïèse, ce qui implique une atteinte endogène ou exogène de la cellule-souche hématopoïétique. Répondent à cette définition des maladies constitutionnelles ou acquises.

Myélogramme est indispensable au diagnostic pour éliminer une pancytopenie périphérique par destruction des cellules matures au niveau du sang ou des tissus, ou une tumeur maligne (leucémie, métastase de cancer). Le frottis est typiquement désertique ou nettement appauvri, notamment en érythroblastes et précurseurs granulomonocytaires. Le nombre des mégacaryocytes est diminué. Tous les stades de maturation sont concernés et l'aspect cytologique des cellules résiduelles est normal[131].

1.1.2.1. Héritaire : La maladie de Fanconi :

La maladie de Fanconi ou l'anémie de Fanconi (AF) est un syndrome génétique humain rare à hérédité récessive, caractérisé par un phénotype extrêmement complexe et hétérogène . Décrite par le pédiatre suisse Guido Fanconi pour la première fois en 1927; qui a publié un rapport sur une fratrie dont les membres présentaient une grave anémie aplasique associée à plusieurs malformations congénitales . La principale manifestation clinique de l'AF est la présence d'une pancytopenie (anémie profonde, normochrome, normocytaire ;leucopenie ; thrombopenie) . Cette anomalie périphérique corrèle avec la présence d'une moelle hypoplasique (se déclarant au cours de la première décennie de vie)[132].

1.1.2.2. Acquise :

1.1.2.2.1. Aplasie post hépatitique idiopathique :

De nombreux cas d'aplasies dans les semaines qui suivent une hépatite clinique ont été rapportés depuis 20 ans. Les aplasies post hépatitiques sont aujourd'hui définies comme des aplasies sévères associées à une élévation des transaminases (ALAT et ASAT) au-dessus de deux fois la normale. Elles ont un début particulièrement rapide. On ne retrouve généralement pas d'anticorps sérique contre les virus d'hépatite connus, ni de génome viral dans la moelle osseuse [131].

1.1.2.2.2. Chimiothérapie et radiothérapie :

La plupart des thrombopénies constatées chez les patients atteints d'un cancer sont liées au traitement anti-tumoral, en première ligne la chimiothérapie, mais aussi la radiothérapie peuvent causer des aplasies de la moelle osseuse.

Les mécanismes de survenue des thrombopénies induites par les médicaments sont d'ordre immunologique ou non-immunologique . Parmi les mécanismes non-immuns se trouve l'insuffisance médullaire liée à l'exposition à une chimiothérapie anticancéreuse. Le délai d'apparition de ces thrombopénies peut être plus ou moins long et l'expression clinique s'étaler sur plusieurs semaines.

La toxicité médullaire induite par les chimiothérapies est un problème fréquent avec des conséquences significatives pour le patient et pour le cours du traitement proposé. La myélotoxicité touche à des degrés divers les trois lignées cellulaires, se traduisant ainsi par la survenue souvent associée des complications respectives de chacune de ces atteintes. La thrombopénie induite par la chimiothérapie survient chez des patients traités pour un cancer ou une hémopathie maligne [133]. Les épisodes de thrombopénie profonde sont plus fréquents au cours des hémopathies malignes que des tumeurs solides.

La thrombopénie varie selon le type de chimiothérapie, les doses (fortes et uniques ou cumulées), le nombre de plaquettes au départ ($< 150\text{G/L}$), l'âge et le statut général [133,135]. Chez les patients porteurs d'une tumeur solide, la thrombopénie est dose-dépendante, survenant typiquement de 6 à 14 jours après un ou plusieurs cycle de chimiothérapie, témoignant d'une certaine toxicité cumulative [105]. La quasi-totalité des chimiothérapies cytotoxiques peuvent induire une thrombopénie. Néanmoins, la cinétique et le nadir de cette thrombopénie dépend du mécanisme d'action du médicament. Ainsi, alors que la majorité des chimiothérapies exerce son activité antiméiotique sur les progéniteurs des dernières phases de développement du mégacaryocyte, le busulfan et le carboplatine agissent sur les premières cellules souches et exposent donc à un risque accru de thrombopénie prolongée et réfractaire. Les associations ICE (ifosfamide + carboplatine + étoposide), AI (doxorubicine + ifosfamide) et MAID (mesna + doxorubicine + ifosfamide + dacarbazine) sont responsables d'un nadir plus précoce que le carboplatine, le melphalan, ou les nitrosourées.

A côté des chimiothérapies myélotoxiques, les nouveaux agents anticancéreux spécifiques de cibles cellulaires sont aussi pourvoyeurs de thrombopénie. Ainsi, plusieurs cas de thrombopénie ont été attribués, par exemple, au rituximab, anticorps monoclonal chimérique anti-CD20, utilisé dans les hémopathies malignes B [136]. De même, le bortezomib, inhibiteur de l'activation du facteur NF- α B, atteint la capacité des mégacaryocytes à générer des plaquettes. La thrombopénie est cyclique (/14jours), sa sévérité dépend du chiffre de plaquettes pré- chimiothérapie et son nadir se réduit avec le nombre de cycle [137]. Le thalidomide, d'utilisation croissante en oncohématologie a été associé à la survenue de thrombopénies dose-dépendantes de type immune [138]. De même, le tomosifène, habituellement très bien toléré et largement utilisé comme hormonothérapie du cancer du sein, peut induire une thrombopénie profonde [100].

1.1.2.2.3. Toxicité médicamenteuse :

Divers Des cas isolés d'aplasie ou de myélosuppression transitoire ont été rapportés en association avec la prise de nombreux médicaments. Ces cas sont rares, en général régressifs à l'arrêt des médicaments pris et le lien de cause à effet est plus ou moins important. Ces cas font l'objet d'analyses systématiques à la fois par les firmes commercialisant ces produits et par les agences nationales contrôlant les médicaments (pharmacovigilance)

Thrombopénies centrales
Colchicine
Dérivés du benzène
Thiazidiques
Antiviraux
Antifoliques
Anti inflammatoires
Interféron α

Tableau 8 : les médicaments provoquant une thrombopénie centrale(original).

- La colchicine et la vincristine inhibent les microtubules du cytosquelette[24].
- Anti-inflammatoires et analgésiques : Depuis les années 1950 : et la mise en place de structures de pharmacovigilance, les anti inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont connus pour leur toxicité. Les butazones ont été les premiers suspectés. Un risque élevé est confirmé en Europe avec le groupe des butazones, l'indométacine et le diclofénac. Un faible excès de risque en rapport avec le salicylés a été signalé dans toute l'étude américaine et meme l'enquête française avec l'usage thérapeutique régulier des salicylés, alors que le risque n'est pas significatif avec le paracétamol .
- Anti-infectieux : un excès de risque significatif en rapport avec la prise de sulfamides , de triméthoprime-sulfaméthoxazole (Bactrim) et de bêta-lactamines . Ces médicaments semblent associés à des leucopénies et à des pancytopénies régressives . Les antiviraux sont susceptibles d'induire ou d'aggraver une insuffisance médullaire dans des contextes particuliers (infection par le VIH, déficits immunitaires acquis, etc.). C'est le cas de l'azidothymidine ou du ganciclovir.
- Antidépresseurs et neuroleptiques : La survenue d'aplasies toxiques est décrite avec les phénothiazines (chlorpromazine) et avec l'usage prolongé des barbituriques. Des aplasies aiguës ont été rapportées avec le valproate de sodium (Dépakine®). La survenue rare d'aplasies médullaires profondes a également été observée dans les études précliniques d'un nouvel antépileptique : le felbamate (Taloxa®).
- Interféron ; L'interféron α recombinant entraîne constamment une leucopénie et une thrombopénie dose-dépendantes. Toutefois, quelques hypoplasies et aplasies médullaires plus durables ont été rapportées.
- Des cas d'aplasie ont été signalés après traitement par des herbes médicinales dont la composition n'est pas connue, ainsi que lors de toxicomanies avec méthylène-dioxy-méthamphétamine (Ecstasy). Les vaccinations ont été étudiées dans l'enquête française et ne sont pas reliées à un excès d'aplasie médullaire [131].

1.2. Insuffisance selective de la ligne megacaryocytaire :

1.2.1. Héritaire :

Amegacryocytose précédant l' aplasie medulaire :

L'amégacaryocytose congénitale Il s'agit d'une maladie rare, se révélant le plus souvent dans la première année de vie et pouvant évoluer vers une aplasie médullaire. Les patients ont des taux élevés de thrombopoïétine plasmatique. In vitro les cellules médullaires CD34+ ne peuvent pas se différencier en mégacaryocytes. Ce défaut de différenciation est en rapport avec une anomalie du gène c-MPL codant pour le récepteur de la thrombopoïétine. Plusieurs types de mutation ont été décrits. Les patients sont le plus souvent doubles hétérozygotes pour des mutations ou des délétions différentes ou homozygotes pour une mutation en cas de consanguinité. La plupart des patients développent une aplasie médullaire tri-lignée durant la première année de vie. Le seul traitement curatif à l'heure actuelle repose sur l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques [139].

1.2.2. Acquise :

1.2.2.1. Intoxication éthylique :

La cirrhose hépatique par intoxication éthylique s'accompagne d'un ensemble de dysfonctionnements qui peuvent affecter le fonctionnement des plaquettes. Le désordre plaquettaire peut être quantitatif (thrombopénies) ou qualitatif (thrombopathies) avec un nombre de plaquettes pouvant diminuer jusqu'à moins de 50 G/L. Différents mécanismes sont possibles aussi : un hypersplénisme avec séquestration des plaquettes, une atteinte immunitaire avec une réduction de durée de vie ou un déficit de thrombopoïétine avec une dysmégacaryopoïèse. L'alcool provoque une toxicité mégacaryocytaire directe et des carences vitaminiques (acide folique). Les fonctions touchées lors de l'atteinte hépatique sont celles d'adhésion et d'agrégation par une diminution des sites GPIb à la surface plaquettaire. Le déficit est corrélé au degré d'insuffisance hépatocellulaire. Les thrombopathies sont accompagnées de thrombopénie [40].

1.2.2.2. Infection virale :

Le mécanisme de la thrombopénie est central et périphérique dans l'infection au HIV, en effet les plaquettes sont détruites par des anticorps anti-plaquettes en périphérie et la thrombopoïèse est inhibée au niveau central [116].

1.2.2.3. Infection bactérienne :

Le sepsis a récemment été redéfini comme une dysfonction d'un ou de plusieurs organes causée par une dérégulation de la réponse inflammatoire de l'hôte suite à une infection majoritairement d'origine bactérienne, principalement *Staphylococcus aureus* (20,5 %), l'espèce *Pseudomonas* (19,9 %) et la famille Entérobactéries (*Escherichia coli*, 16,0 %). Il existe une réelle inter-connexion entre la coagulation et l'inflammation participant à la physiopathologie du sepsis. La constatation d'une thrombopénie est fréquente (de 22 à 58 % selon les études) chez les patients présentant un sepsis, par un mécanisme périphérique et central qu'il s'agit d'une perturbation de la thrombopoïèse : malgré une augmentation des taux de TNF α et d'IL-6 stimulant la thrombopoïèse chez les patients présentant un sepsis, une dérégulation de la production de thrombopoïétine (TPO) ainsi qu'une hémophagocytose des mégacaryocytes diminuent la thrombopoïèse. un biomarqueur est la fraction de plaquettes immatures (proportion de plaquettes réticulées circulantes) qui se trouve corrélée à la diminution de la thrombopoïèse [117].

1.2.2.4. Certains médicaments :

Rarement les diurétiques thiazidiques par mécanisme immun allergiques central et périphérique [141].

2.Déficit qualitatif : thrombopénie par thrombopoïèse inefficace

2.1.Héréditaire :

2.1.1.Syndrome de Wiskott-Aldrich :

Lié au chromosome X, ce syndrome ne concerne que les garçons et se manifeste souvent par un syndrome hémorragique dès les premières semaines de vie . Un eczéma est souvent associé. Le déficit immunitaire qui touche les fonctions lymphocytaires T et B se manifeste dans les premières années de vie par des infections bactériennes sévères ou à répétition. Chez ces patients, la thrombopénie est primitivement en rapport avec un mécanisme central dû à une anomalie de la protéine WASP, codée par le gène WAS, dont le rôle est important dans la polymérisation des filaments d'actine des cellules hématopoïétiques et qui intervient dans la mégacaryopoïèse, en particulier la formation des proplaquettes. La thrombopénie est très souvent aggravée par un mécanisme périphérique d'origine auto-immune pouvant conduire à un volume plaquettaire moyen dans les limites de la normale par la coexistence de plaquettes de petite taille, propres au syndrome de Wiskott-Aldrich et à des plaquettes de grande taille, habituelles dans les thrombopénies immunologiques[139]. Ce syndrome peut explorer par une hypoaggrégation à différents inducteurs : ADP, collagène et l'adrénaline. L'étude génétique est utile pour confirmer le diagnostic d'une part et pour préciser le type des mutations d'autre part[142].

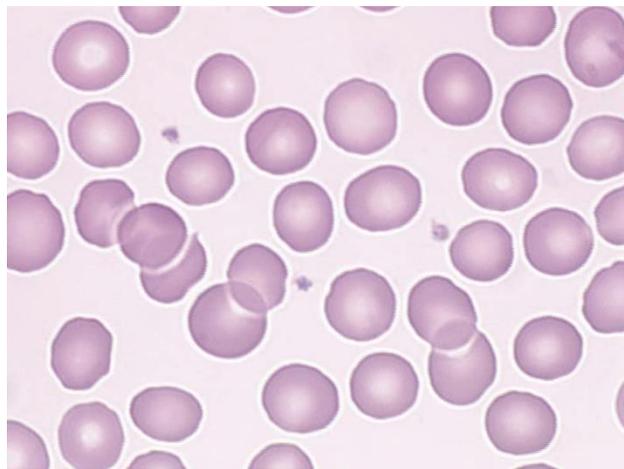


Figure 26 : Plaquettes de petite taille. Syndrome de Wiskott-Aldrich[P].

2.1.2.Syndromes MYH9 :

Il s'agit d'une des formes les plus fréquentes de thrombopénies constitutionnelles. Ce groupe des thrombopénies constitutionnelles avec macroplaquettes associées à des inclusions leucocytaires ou pseudocorps de Döhle comprend les syndromes de May-Hegglin, de Fechtner, d'Epstein, de Sebastian, et le syndrome « Alport-like » avec macrothrombocytopenie. Leur mode de transmission est autosomique dominant, cependant 40 % des cas sont dus à des mutations de novo. Ces syndromes ont été récemment regroupés dans une même entité clinique en raison de la mise en évidence de mutations localisées au

niveau d'un même gène : le gène MYH9 (pour Myosine HeavyChain 9). L'anomalie génétique est un déficit génétique de la chaîne lourde de la myosine, non musculaire, protéine essentielle pour assurer, en association avec l'actine, les fonctions contractiles et sécrétoires de la plaquette. Les signes hémorragiques sont inconstants, habituellement modérés, surtout provoqués lors de traumatismes ou d'interventions chirurgicales. Dans certains cas, les hémorragies sont plus sévères. L'association thrombopénie—plaquettes géantes (5 à 40 % des plaquettes) est présente dès la naissance. En outre, des inclusions basophiles sont souvent présentes dans le cytoplasme des leucocytes. Elles sont décrites sous le nom pseudo-corps de Döhle. Elles peuvent passer inaperçues et ceci justifie l'analyse éventuelle par immunofluorescence de la myosine intraleucocytaire et plaquettaire. La thrombopénie est isolée dans les syndromes de May-Hegglin et de Sebastian, associée dans les autres syndromes à une atteinte rénale et une surdité de perception. Une cataracte bilatérale est parfois présente. Les atteintes rénales et oculaires, ainsi que la surdité, peuvent apparaître précocement durant l'enfance, ou plus tard à l'âge adulte, justifiant la surveillance au long cours de ces patients. Ces dernières années plusieurs nouvelles mutations du gène MYH9 ont été décrites. Le diagnostic de certitude repose sur l'analyse génétique, cependant le séquençage de ce gène étant long (40 exons), la recherche d'agrégats protéiques dans les polynucléaires neutrophiles en immunofluorescence permet un diagnostic plus rapide [139].

2.1.3. Macrothrombocytopenie familiale méditerranéenne :

Il s'agit d'une thrombopénie familiale autosomique dominante, modérée, peu ou pas symptomatique, en rapport avec une mutation hétérozygote du gène de la GP Iba. Certaines de ces thrombopénies pourraient être des formes hétérozygotes du syndrome de Bernard-Soulier [143].

2.1.4. Syndrome de Bernard-Soulier :

Le syndrome de Bernard-Soulier a été décrit il y a presque 70 ans comme un trouble hémorragique congénital grave et potentiellement mortel. Le premier cas a été rapporté en 1948 par deux hématologues français Jean Bernard et Jean-Pierre Soulier, chez un jeune patient caucasien d'une famille consanguine affecté dès le début de sa vie avec des épisodes hémorragiques sévères, un saignement prolongé, une numération plaquettaire basse et de très grosses plaquettes. Ils ont appelé le trouble «la dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale», Actuellement, le syndrome est connu sous différentes appellations : Syndrome de Bernard-Soulier, La dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale ou encore le syndrome des plaquettes géantes .

Il s'agit d'une thrombopénie constitutionnelle macrocytaire de transmission autosomale récessive extrêmement rare, due à un déficit quantitatif ou qualitatif du complexe GPIb-IX-V responsable d'un problème d'adhésion des plaquettes au sous-endothélium par le biais du facteur Willebrand. Il se caractérise par une tendance hémorragique d'intensité variable, des plaquettes sanguines géantes et une thrombopénie légère à profonde (30 à 80 g/L) du fait de l'anomalie à la fois fonctionnelle et quantitative des plaquettes. Causé par des mutations homozygotes affectant les gènes des glycoprotéines de surface suivantes GPIb β , GPIba ou GPIX, trois des quatre gènes codant pour les sous-unités formant le complexe GP IB/IX/V et le défaut est limité à la lignée mégacaryocytaire. Le diagnostic moléculaire de l'anomalie

généétique est important, car il existe une corrélation entre la mutation retrouvée et le potentiel hémorragique, alors que celui-ci ne peut être relié au nombre de plaquettes en raison de la thrombopathie associée. En effet, les patients porteurs d'une mutation de GPIb α , GPIb β ou certaines mutations de GPIX ont des phénotypes hémorragiques plus sévères. Certains patients ont des thrombopénies modérées et des mutations d'un seul gène : ce sont donc des variants monoalléliques, tel le variant Bolzano, qui ont un risque hémorragique moindre [139].

Par conséquence les plaquettes de patients atteints de Bernard-Soulier, le complexe GPIb-IX-V est habituellement indétectable ou exprimé à des niveaux très bas. Quel que soit le gène touché par des mutations, il n'y a généralement pas d'assemblage du complexe dans le réticulum endoplasmique empêchant sa localisation au niveau de la membrane plaquettaire.

Le déficit en récepteurs membranaires glycoprotéiques GPIb-IX est démontré par cytométrie en flux [144]. L'étude fonctionnelle des plaquettes in vitro confirme l'absence d'agglutination en présence de ristocétine[145].

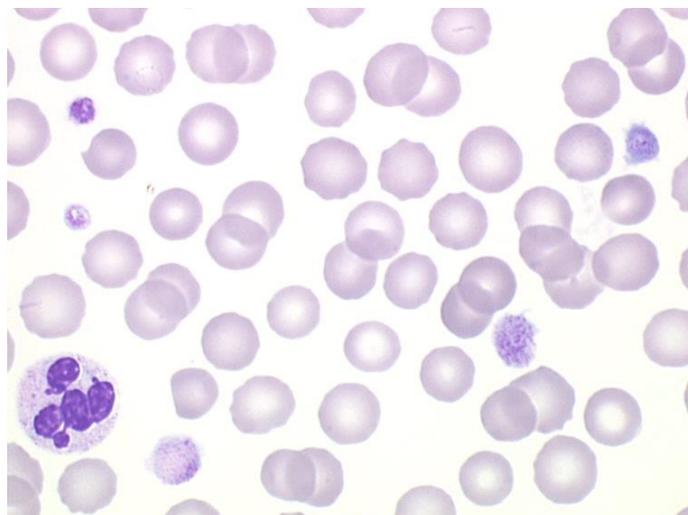


Figure 27 : plaquettes géantes de la maladie de Bernard et Soulier

2.1.5. Syndrome des plaquettes grises :

Le syndrome des plaquettes grises associe une anisocytose plaquettaire avec des plaquettes de grande taille, grises, une absence de granules et une diminution de leur contenu (facteur Willebrand, facteur 4 plaquettaire, fibrinogène...). La transmission est autosomique récessive. Le syndrome hémorragique est variable selon les patients, souvent modéré, de même que l'agrégation au collagène des plaquettes in vitro peut être normale chez certains patients et nulle chez d'autres. L'anomalie génétique causale a été décrite en 2012. Il s'agit du gène de la Neurobeachin-like2 (NBEAL2) situé sur le chromosome 3 (3p21). Il existe une évolution possible vers la myélofibrose[139].

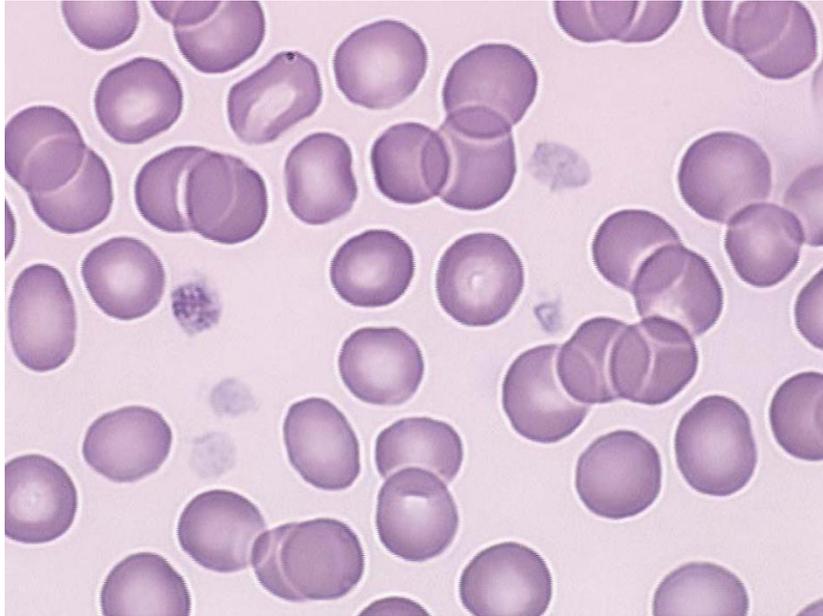


Figure 28 : Hétérogénéité de taille des plaquettes et du contenu en granulations. Syndrome des plaquettes grises par déficit en granules alpha [P].

2.1.6. La thrombopénie Paris-Trousseau :

Ce syndrome rare associe un trouble de la production plaquettaire avec dysmégacaryopoïèse, une thrombopénie modérée (30 à 80 g/L) avec des plaquettes de grande taille dont certaines possèdent une granulation géante correspondant à la fusion des granules alpha intraplaquettaires, et une délétion du chromosome 11 au niveau du bras long q position 23 . Cette thrombopénie s'accompagne dans certains cas d'un syndrome malformatif , le syndrome de Jacobsen associant un retard de croissance staturo-pondéral et un retard mental en général modéré, un syndrome dysmorphique de la face (trigonocéphalie, hypertélorisme, épicanthus, strabisme, cataracte, élargissement de l'ensellure nasale, nez court, bouche « en carpe », rétrognathie, anomalie palatine et dentaire, implantation basse des oreilles) et des extrémités (doigts courts, clinodactylie, syndactylie). Peuvent également s'associer des malformations cardiaques, des anomalies génito-urinaires, voire des anomalies du système nerveux central. La thrombopénie Paris-Trousseau est peu symptomatique et peut se corriger au moins partiellement avec le temps. les granules α géants qui sont incapables de reléguer leur contenu après stimulation par la thrombine peut confirmer le diagnostique[139].

2.1.7 Syndrome plaquettaire pseudo willebrand :

Il s'agit d'une thrombopathie rare dont le diagnostic différentiel est la maladie de Willebrand de type 2B. L'anomalie réside au niveau de la zone de fixation du facteur Willebrand sur la sous-unité GPIb α par anomalie de la glycoprotéine. Cela se traduit par une augmentation de la liaison du facteur Willebrand plasmatique à son récepteur plaquettaire, par hyperaffinité , d'où la diminution du taux de facteur Willebrand circulant. Il existe une thrombopénie plus ou moins importante, avec présence de grandes plaquettes , une diminution du taux du co-facteur de la ristocétine et une hyper agglutination des plaquettes aux faibles doses de ristocétine[143].

2.2 acquise :

2.2.1 Thrombopénie dans le syndrome myélodysplasique :

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) regroupent différentes hémopathies résultant d'une atteinte clonale de la cellule souche hématopoïétique. Ils sont caractérisés par une hématopoïèse inefficace (moelle riche mais peu performante) des anomalies morphologiques qui atteignent une ou plusieurs lignées (dysérythropoïèse, dysgranulopoïèse, dysmégacaryopoïèse) touchant à la fois le noyau et le cytoplasme cellulaire .

le syndrome myélodysplasique est souvent découvert fortuitement à la suite d'un bilan de contrôle ou destiné à explorer une autre affection. Dans les autres cas, les premiers signes sont ceux liés aux cytopénies (anémie, neutropénie et thrombopénie modérée à 80 G/L), il peut être confirmé par le frottis sanguin et le myélogramme[146]

2.2.2 Carence en vitamine B12 :

La thrombopénie est liée à une carence en vitamine B12 responsables d'un défaut de synthèse du DNA lui-même responsable d'une diminution des mitoses, de la prolongation du cycle cellulaire et de la destruction intramédullaire . l'association thrombopénie , anémie mégaloblastique sont des signes d' une carence nutritionnelle (folates ou vitamine B12)[144].

CHAPITRE VI :
PRISE EN CHARGE ET
TRAITEMENT

VI . LA PRISE EN CHARGE :

La prise en charge d'une thrombopénie est fonction de sa sévérité, de son mécanisme, de son étiologie . L'évaluation du patient est guidée par le contexte clinicobiologique dans lequel est découverte la thrombopénie, l'appréciation du risque hémorragique immédiat. Cette évaluation peut aussi s'imposer en raison de la nécessité de gestes plus ou moins invasifs, chez un patient thrombopénique. Les différentes étapes de cette prise en charge, menées souvent simultanément, doivent permettre de préciser :

- la réalité de la thrombopénie ;
- l'appréciation du risque hémorragique immédiat ;
- la conduite diagnostique étiologique à envisager ;
- les mesures à adopter [147].

1.Confirmation de la réalité de la thrombopénie

Ce point n'est justifié qu'en l'absence de syndrome hémorragique et de tout antécédent, devant la découverte fortuite d'une thrombopénie modérée. Cette situation justifie alors un contrôle de la numération plaquettaire sur tube citraté pour éviter des amas plaquettaires qui entraîneraient une fausse thrombopénie [147].

2.Évaluer la gravité de la thrombopénie

- La sévérité d'une thrombopénie est liée à la présence ou non d'un syndrome hémorragique, en particulier cutanéomuqueux et non au chiffre de plaquettes.
- Le syndrome hémorragique survient quand les plaquettes sont moins de 20 G/L . Un accident hémorragique grave est presque toujours précédé par un syndrome hémorragique cutanéomuqueux.
- Seule l'hémorragie intracrânienne ou d'exceptionnels saignements digestifs massifs justifient un traitement en urgence avant d'avoir déterminé l'origine de la thrombopénie. Ces cas (qui sont rares), impliquent de transfuser un concentré plaquettaire en réanimation .
- Dans toutes les autres situations, le médecin a le temps de mener une démarche diagnostique qui conduira au traitement adapté [147].

3. La conduite diagnostique biologique et étiologique :

Qui se fait par les examens biologiques à viser diagnostique et étiologique cités auparavant [147].

4. Prise en charge thérapeutique

Trois types de prise en charge sont possibles :

1. abstention thérapeutique et simple surveillance à définir quand la thrombopénie est modérée ;
2. traitement de la cause de la thrombopénie quand c'est possible ;
3. traitement de la thrombopénie elle-même si elle est menaçante [147].

4.1. Indication de la transfusion de concentrés plaquettaires

La transfusion de concentré plaquettaire est indiquée chez les patients présentant une thrombopénie centrale due à un déficit quantitatif ou qualitatif de la production plaquettaire. Elle peut aussi être proposée aux patients présentant un syndrome hémorragique en rapport avec une thrombopathie avec ou sans thrombopénie. Les thrombopénies périphériques, quel qu'en soit le mécanisme, relèvent en théorie du traitement spécifique de la maladie causale puisque les plaquettes transfusées seront détruites comme les plaquettes autologues. Il existe cependant des exceptions à cette règle, en particulier en présence d'un syndrome hémorragique menaçant le pronostic vital [148].

4.2. Traitement des thrombopénies périphériques

4.2.1. Traitement de purpura thrombopénique immunologique

L'indication de traiter le purpura thrombopénique immunologique repose sur l'évaluation du risque hémorragique. Mis à part le traitement local des hémorragies, la prise en charge thérapeutique repose sur la corticothérapie par administration de méthylprednisolone (la dose habituelle étant de 2 mg/kg/j, mais des doses beaucoup plus importantes ont été proposées) [149]. Les plasmaphèreses sont également utilisées. En cas d'échec du traitement médical, il peut être indiqué de pratiquer une splénectomie, efficace dans plus de 75 % des cas [150,151]. L'injection de fortes doses d'Ig intraveineuse (Ig IV) pendant 2 jours à la posologie de 1 g/kg/j permet d'obtenir une augmentation du chiffre de plaquettes à plus de 50 G/L en 24 à 48 heures chez plus de 70 % des patients [152]. Plus récemment, l'anticorps monoclonal anti-CD20 (rituximab : MABTHERA®) a été évalué dans le traitement de la maladie pour éviter la splénectomie. L'utilisation d'immunosuppresseurs et d'autres traitements tels que le danazol (DANATROL®) ou la dapsonne (DISULONE®) est réservée en cas de rechute après splénectomie. Les transfusions n'ont leur place qu'en traitement d'appoint dans les situations d'urgence [153].

4.2.2. Thrombopénies immunoallergiques médicamenteuses

Cette prise en charge repose sur l'arrêt de la ou des molécules potentiellement impliquées et lorsqu'elles sont indispensables elles doivent être remplacées par des molécules de structure chimique différente. Lorsque la thrombopénie profonde s'accompagne d'un purpura extensif en particulier muqueux, ce sont les formes dans lesquelles les patients sont le plus à risque d'hémorragie intracérébrale [154] et dans ces conditions il est raisonnable de transfuser ces patients en plaquettes. quoiqu'il en soit, il n'existe pas de données démontrant l'efficacité de ces transfusions. Il est de pratique clinique habituelle d'administrer des corticostéroïdes à ces patients ; mais là encore il n'est pas établi si ceci est bénéfique. Habituellement, la molécule disparaît de la circulation en quelques jours permettant une remontée en 1 à 2 jours des plaquettes. Rarement la thrombopénie et le syndrome hémorragique persistent pour plusieurs

semaines et c'est dans ces cas là qu'ont été étudiés les traitements par immunoglobulines intraveineuses [136,137] et même échanges plasmatiques où là encore le bénéfice n'a pas été prouvé

4.2.3.Thrombopénies par l heparine :

La conduite thérapeutique au cours des TIH n'est pas univoque, mais certaines conduites font l'objet de consensus largement admis notamment la règle des 4S : suspicion de TIH, suspension de l'héparine, substitution antithrombotique, surveillance clinico-biologique. Ainsi, en cas de suspicion clinique d'une TIH et avant même d'obtenir les résultats biologiques, il faut arrêter immédiatement l'héparine et proscrire le rinçage hépariné des cathéters. Le changement d'une héparine non fractionnée par une HBPM ou l'inverse est contre-indiqué, car des réactions croisées se voient dans plus de 90 % des cas lors des tests in vitro. Il faut éviter également les transfusions plaquettaires qui sont susceptibles d'aggraver les complications thrombotiques.

L'arrêt d'administration de l'héparine n'enraye pas la génération de thrombine ni le risque thromboembolique associé à la TIH puisque ce risque persiste plusieurs jours voire plusieurs semaines après l'arrêt de l'héparine et il est indépendant de la numération plaquettaire. Ceci implique la nécessité d'un traitement antithrombotique efficace et urgent pendant la phase aiguë. Dans ce cadre, le relais rapide ou l'usage des AVK doit être évité car non seulement il n'assure pas une protection immédiate mais surtout il peut exposer à des accidents thrombotiques sévères ou de gangrène veineuse secondaire à un état d'hypercoagulabilité temporaire dû à une chute précoce des protéines inhibitrices de la coagulation C et S. Le relais par les AVK doit être instauré dès que le taux des plaquettes le permet (> 150 Giga/L) et d'une façon progressive, mais entre le moment où l'héparine est arrêtée et/ou les antivitamines K sont introduits à dose efficace, il faut une alternative à l'héparine et plusieurs nouveaux médicaments ont été proposés : Le danaparoiide sodique ; La lépirudine ; L'argatroban [115].

4.2.4.Traitement d'une coagulation intravasculaire disséminée

Le traitement d'une coagulation intravasculaire disséminée associée à des phénomènes hémorragiques repose en dehors de la médication locale, sur le traitement de l'affection causale en priorité . Il est possible d'administrer du plasma frais congelé (10 à 20 ml/kg) [155]. L'administration de fibrinogène est justifiée en présence de taux inférieur à 1 g/l [156].

4.2.5.Traitement Syndromes des antiphospholipides :

Il repose sur les anticoagulants. Les corticoïdes ont leur place dans des situations très particulières du syndrome comme dans sa forme grave [157,158].

4.2.6.Thrombopénies virales :

Le syndrome infectieux modéré peut passer inaperçu . La corticothérapie est peu efficace ; la thrombopénie se corrige le plus souvent spontanément , parfois en 1 à 2 mois .

4.2.7.Thrombopénie gestationnelle

En cas de thrombopénie gestationnelle, le risque hémorragique est pratiquement nul.

L'abstention thérapeutique est recommandée avec une surveillance régulière de la cinétique plaquettaire en vue de dépister une aggravation de la thrombopénie . Le diagnostic de certitude est fait en post-partum par la normalisation du taux de plaquette [159].

4.2.8. Les micro-angiopathies thrombotiques

Le traitement du SHU et du PTT repose essentiellement sur les échanges plasmatique avec du plasma frais congelé, l'efficacité du traitement est de 80% dans la population générale [160].

CHAPITRE VII : **CONCLUSION**

CONCLUSION :

La thrombopénie est devenue une anomalie fréquemment rencontrée du fait de la numération plaquettaire devenue systématique. La liste des étiologies, surtout d'origine médicamenteuse, s'est naturellement allongée.

Les étiologies peuvent être envisagées selon le mécanisme de la thrombopénie : central par atteinte de la lignée au niveau médullaire, ou périphérique obéissant à des mécanismes variés dont le plus fréquent est la destruction sous l'effet d'auto-anticorps (PTI).

Les thrombopénies dues à l'héparine et celles du VIH sont deux exemples d'actualité. L'enquête étiologique se doit d'être exhaustive devant une simple anomalie de l'hémogramme, mode de découverte le plus fréquent, et comporte obligatoirement un interrogatoire et un examen clinique complet, et des investigations complémentaires réfléchies qui permettront de faire rapidement le diagnostic. Quoiqu'il en soit, il faut de prime abord se focaliser vers les causes les plus fréquentes.

La fausse thrombopénie est un piège de diagnostic à connaître. Toute thrombopénie doit être confirmée sur frottis sanguin.

La surveillance des plaquettes des patients thrombopénique constitue l'élément clé du traitement et de la prise en charge.

REFERANCES
BIBLIOGRAPHIQUE
ET
WEBOGRAPHYQUES

- [1] .Yoann PICARD, Thèse de doctorat en médecine, Université Henri Poincare ,Faculté de médecine de Nancy , 2010.
- [2] . Sylvia Bellucci.Physiologie de l'hémostase primaire, Hématologie Revue,Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS 2002
- [3] . Granat, F. (2016). Agrégation plaquettaire in vitro: effets anticoagulants du CTAD et utilisation à des fins diagnostiques dans les espèces sensibles (Doctoral dissertation).
- [4] . M. Jandrot-Perrusa, P. Nurdenc . 2010. Des fonctions plaquettaires aux implications thérapeutiques. La Revue de médecine interne 31S.S319–S323
- [5] . LAVIGNE-LISSALDE, G., DORANGEON, E., & BRUN, S. (2006). Les thrombopénies: Un état des lieux 2005. Spectra biologie, 25(152), 26-33.
- [6] . Godeau B, Bierling P. Thrombopénies. EMC Traité de Médecine Akos 2012;7(1):1-9 [Article 4-0080].
- [7] . Stephan F, Hollande J, Richard O, Cheffi A, Maier-Redelsperger M, Flahault A Thrombocytopenia in a surgical ICU. Chest 1999;115:1363-70.
- [8] . Vanderschueren S, De Weerd A, Malbrain M, Vankersschaever D, Frans E, Wilmer A, Bobbaers H. Thrombocytopenia and prognosis in intensive care. Crit Care Med 2000;28:1871-6.
- [9] . Crowther MA, Cook DJ, Meade MO, Griffith LE, Guyatt GH, Arnold DM, Rabbat CG, Geerts WH, Warkentin TE. Thrombocytopenia in medical-surgical critically ill patients: prevalence, incidence, and risk factors. J Crit Care 2005;20:348-53
- [10] . Nijsten MW, ten Duis HJ, Zijlstra JG, Porte RJ, Zwaveling JH, Paling JC, The TH. Blunted rise in platelet count in critically ill patients is associated with worse outcome. Crit Care Med 2000;28:3843-6.
- [11] . Akca S, Haji-Michael P, de Mendonca A, Suter P, Levi M, Vincent JL. Time course of platelet counts in critically ill patients. Crit Care Med 2002;30:753-6
- [12] . Shalansky SJ, Verma AK, Levine M, Spinelli JJ, Dodek PM. Risk markers for thrombocytopenia in critically ill patients: a prospective analysis. Pharmacotherapy 2002;22:803-13.
- [13] . Strauss R, Wehler M, Mehler K, Kreutzer D, Koebnick C, Hahn EG. Thrombocytopenia in patients in the medical intensive care unit: bleeding prevalence, transfusion requirements, and outcome. Crit Care Med 2002;30:1765-71
- [14] . Crowther MA, Cook DJ, Meade MO, Griffith LE, Guyatt GH, Arnold DM, Rabbat CG, Geerts WH, Warkentin TE. Thrombocytopenia in medical-surgical critically ill patients: prevalence, incidence, and risk factors. J Crit Care 2005;20:348-53
- [15] . Vandijck DM, Blot SI, De Waele JJ, Hoste EA, Vandewoude KH, Decruyenaere JM. Thrombocytopenia and outcome in critically ill patients with bloodstream infection. Heart Lung 2010;39:21-6
- [16] . Moreau D, Timsit JF, Vesin A, Garrouste-Orgeas M, de Lassence A, Zahar JR, Adrie C, Vincent F, Cohen Y, Schlemmer B, Azoulay E. Platelet count decline: an early prognostic marker in critically ill patients with prolonged ICU stays. Chest 2007;131:1735-41.

- [17] . Bull. Acad. Natle Méd., 2013, 197, no 2, 395-406, séance du 26 février 2013 .
- [18] . Cramer-Bordé E. Production plaquettaire : régulation cellulaire et moléculaire. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie 2008 ; 13-019-A-40.
- [19] . Sefrioui MR. Plaquettes et transfusion sanguine. Thèse en pharmacie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V- Souissi, 2006 ; n°088, 215p.
- [20] . Belluci S. La Physiologie plaquettaire. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie 1991 ; 13-000-F-10
- [21] . Podgornik H. RUNX1 amplification in lineage conversion of childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia to acute myelogenous leukemia. Cancer genetics and cytogenetics 2007; 178(1): 77-81.
- [22] . Dunois-Larde, C., & Baruch, D. (2011). In vitro platelet production. Transfusion clinique et biologique: journal de la Societe francaise de transfusion sanguine, 18(2), 158-164.
- [23] . Valensi .F,Laboratoire d'hématologie, hôpital Necker-Enfants Malades, 149-161, rue de Sèvres,75743 Paris cedex 15, France
- [24] . Wintrobe et Lee GR, Bithell TC, Athens JW, Boggs DR, forester J and al. Hématologie clinique. 8e éd. Tome 2. Padoue : Piccin ; 1990 ; p : 1286-1303.
- [25] . Elalamy I. Thrombopathies acquises et congénitales. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie 2006 ; 13-021-A-10.
- [26] . Belluci S. Physiologie de l'hémostase primaire. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie 2002 ; 13-019-A-05.
- [27] . Dupuy E, Gallet C et Tolédano SL. Hémostase primaire. In : Sébahoun G, Ed. Hématologie clinique et biologique. Paris : Arnette, 1998 ; p : 401-8.
- [28] . Trzeciak MC, Vinciguerra C et Bordet JC. Physiologie et exploration de l'hémostase et de la thrombose : hémostase primaire. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie 1997 ; 13 019-A-10.
- [29] . Etalamy I., MM samama . Physiologie de l'hémostase. Encyclopédie Médico-chirurgicale 2001 ,6p ; 19-0100.
- [30] . GACHET, C. Les mécanismes moléculaires de l'activation plaquettaire. Bulletin de l'Académie nationale de médecine 2013, 197(2), 361-373.
- [31] . Philippe. P. 2010 Conduite à tenir devant une thrombopénie. La revue de médecine interne; 31:159-82.
- [32] . Thrombocytopenia in the newborn (review). Br J Haematol 1999, juin II, p 865
<http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/plaquettes-sanguines-et-leur-pathologie/115-diagnostic-dune-thrombopenie>
- [33] . Leblanc RM. Le pré-analytique en hémostase et les recommandations du Groupe d'études sur l'hémostase et la thrombose (GEHT). Option Bio 2009 ; 20 : 20-1.
- [34] . Gris JC. Étapes préanalytiques en hémostase. EMC (Elsevier Masson SAS), Biologie médicale, 90-20-0033, 2011.

- [35] . Blomback M, Konkle BA, Manco-Johnson MJ, Bremme K, Hellgren M, Kaaja R ; ISTH SSC subcommittee on women's health issues. Preanalytical conditions that affect coagulation testing, including hormonal status and therapy. *J Thromb Haemost* 2007 ; 5 : 855-8.
- [36] . Polack B, Schved JF, Boneu B, Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose (GEHT). Preanalytical recommendations of the "Groupe d'études sur l'hémostase et la thrombose (GEHT)" for venous blood testing in hemostasis laboratories. *Haemostasis* 2001 ; 31 : 61-8.
- [37] . Schved JF, Jude B, Boneu B, Groupe d'études pour l'hémostase et la thrombose (GEHT). Les prélèvements sanguins veineux pour l'étude de l'hémostase à l'aide de tubes sous vide. *Ann Biol Clin* 2002 ; 60 : 731-3.
- [38] . Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *Int Jnl Lab Hem* 2007 ; 29 : 77-91.
- [39] . Tessier-Marteau, A., Geneviève, F., Godon, A., Macchi, L., & Zandecki, M. (2010, July). Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 68, No. 4, pp. 393-407).
- [40] . Anne Tessier-Marteau ,Franck Geneviève,Alban Godon,Laurent Macchi,Marc Zandecki Laboratoire d'hématologie, CHU d'Angers.anmarteau@chu-angers.fr
- [41] . Société Française d'Hématologie (SFH) :,thrombopénies :item335
- [42] . Corpus Médical – Faculté de Médecine de Grenoble <http://www-sante.ujf-grenoble.fr/SANTE/2/6>
- [43]-Hoffbrand AV, Pettit JE. Normal haematopoiesis and blood cells. *Sandoz Atlas of Clinical Haematology*. St Louis: Mosby-Wolfe; 1994.
- [44]http://pedagogie.actoulouse.fr/svt/serveur/bankact/dossiers/FT/frottis_sang/FT_frottis_sanguin.pdf
- [45] . Giemsa G. Farbenmethoden fur Malariaparasiten. *Zentralbl Bakteriol* 1 1902;31:429—30 [*Zentralbl Bakteriol* 1, 32: 1902; 307—13].
- [46] Giemsa G. Zur Schnellfärbung (Romanowsky-Färbung) von Trockenausstrichen. *Cbl Bakt I Orig* 1914;73:493—6.
- [47] . Horobin RW, Walter KJ. Understanding Romanowsky staining. I: the Romanowsky-Giemsa effect in blood smears. *Histochemistry* 1987;86:331—6
- [48] . Kiernan JA. On chemical reactions and staining mechanisms. In: *Education guide special stains and H & E*. DAKO North America, Carpinteria, CA (USA). Copyright; 2010. p. 172—4 [available at: http://www.dako.com/08066_12may10_webchapter19.pdf].
- [49] . Kiernan JA. Histology FAQ. Staining, Histochemistry and Histotechnology. Version 1.6, Sept. 2014 (available from: <http://www.ihcworld.com/faq/histology-faq/stain/s22.htm>)
- [50]. Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia : a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. *Am J Hematol* 1995 ; 50 : 103-9.
- [51] . Schrezenmeier H, Muller H, Gunsilius E, Heimpel H, Seifried E. Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia and pseudoleucocytosis. *Thromb Haemost* 1995 ; 73 : 506-13

- [52] . Dabadie M, Valli N, Jacobin MJ, Laroche-Traineau J, Barat JL, Ducassou D, et al. Characterisation, cloning and sequencing of a conformation-dependent monoclonal antibody to the alphaIIb beta3 integrin : interest for use in thrombus detection. *Platelets* 2001 ; 12 : 397-405.
- [53] . Sane DC, Damaraju LV, Topol EJ, Cabot CF, Mascelli MN, Harrington RA, et al. Occurrence and clinical significance of pseudothrombocytopenia during Abciximab therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000 ; 36 : 75-83.
- [54] . Arnoux D et Boulière-Albanèse B. Techniques en hémostase. In : Sébahoun G, Ed. *Hématologie clinique et biologique*. Paris : Arnette, 1998 ; p : 563- 8.
- [55] . Manthorpe R, Kofod B, Wiik A, Saxtrup O, Svehag SE. Pseudo-thrombocytopenia. In vitro studies on the underlying mechanism. *Scand J Haematol* 1981 ; 26 : 385-92.
- [56] . Lazo-Langner A, Piedras J, Romero-Lagarza P, Lome-Maldonado C, Sanchez-Guerro J, Lopez-Karpovitch X. Platelet satellitism, spurious neutropenia, and cutaneous vasculitis : casual or causal association .*Am J Hematol* 2002 ; 70 : 246-9.
- [57] . Bizzaro N, Goldschmeding R, Von dem Borne AE. Platelet satellitism is Fc gamma RIII (CD16) receptor-mediated. *Am J Clin Pathol* 1995 ; 103 : 740-4
- [58] . Wautier JL. Les tests immunologiques plaquettaires. *Transfusion clinique et biologique* 2000 ; 7 suppl 1: 69-71.
- [59] . Christopoulos C, Mattock C. Platelet satellitism and alpha granule proteins. *J Clin Pathol* 1991 ; 44 : 788
- [60] . Liso V, Bonomo L. Platelet satellitism to basophils in a patient with chronic myelocytic leukaemia. *Blut* 1982 ; 45 : 347-50.
- [61] . Cesca C, Ben-Ezra J, Riley RS. Platelet satellitism as presenting finding in mantle cell lymphoma. A case report. *Am J Clin Pathol* 2001 ; 115 : 567-70.
- [62] . Raoul wèn-sakia ,K.A.R.F.O.(2009). Les fausses thrombopénies (doctoral dissertation).
- [63] . Rodgers RP, Levin J. A critical reappraisal of the bleeding time. *Semin Thromb Hemost.* 1990. 16(1): 1-20
- [64] . Picker SM. In-vitro assessment of platelet function. *Transfus Apher Sci.* 2011. 44(3): 305-19. [1235].
- [65] . Peterson P, Hayes TE, Arkin CF, Bovill EG, Fairweather RB, Rock WA Jr, Triplett DA, Brandt JT. The preoperative bleeding time test lacks clinical benefit: College of American Pathologists' and American Society of Clinical Pathologists' position article. *Arch Surg.* 1998. 133(2): 134-9.
- [66] . Stepanian A., C. Biron-Andréani . Exploration de l'hémostase primaire. *Annales de biologie clinique.* 2001 ; 59 :725-35
- [67] . P.Leger- Assurances Circulatoires Post-Cardiotomie. Sofraperf. Documentation. Centre Chirurgical Marie Lannelongue. Congrès. Paris 2004.
- [68] . Lippi G, Franchini M, Brocco G, Manzato F. Influence of the ABO blood type on the platelet function analyzer PFA-100. *Thromb Haemost.* 2001. 85(2): 369-70.

- [69] . De Revel T, Doghmi K. Physiologie de l'hémostase. EMC Dentisterie. 2004;1(1):71
- [70] . Jamain A, Clergeau LP, Leborgne S. Prise en charge du risque hémorragique en odontologie. Université de Nantes; 2008.
- [71] . Raji S, El Harti K, El Wady W. Gestion du risque hémorragique chez le cardiopathe en odontologie chirurgicale: première partie: maladies thrombo---emboliques et leurs médications ; Available from:
- [72] . Najean Y, Dufour V, Rain JD, Toubert ME. « The site of platelet destruction in thrombocytopenic purpura as a predictive index of the efficacy of splenectomy » Br J Haematol. 1991;79(2):271-6. PMID 1958485 [archive]
- [73] . Najean Y, Dufour V, Rain JD, Toubert ME. « The site of platelet destruction in thrombocytopenic purpura as a predictive index of the efficacy of splenectomy » Br J Haematol. 1991;79(2):271-6. PMID 1958485 [archive]
- [74] . Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, Müller-Eckhardt C. Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet-reactive antibodies. Blood 1987;70:1722-6.
- [75] . Hézar N, Simon G, Droullé A, Nguyen P. La cytométrie en flux dans un laboratoire d'hémostase. Revue Francophone des Laboratoire, juin 2007. N° 393.
- [76] . Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, et al. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. J Thromb Haemost. 2013.[Epub ahead of print].
- [77] . Clauser S, Cramer-Borde E. Role of platelet electron microscopy in the diagnosis of platelet disorders. Semin Thromb Hemost. 2009. 35(2): 213-23.
- [78] . Harrison P, Mackie I, Mumford A, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. Br J Haematol. 2011. 155(1): 30-44.
- [79] http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doscel/decouv/xtxt/zvie/immuNiv2_1.htm
- [80] . Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification
- [81] . Szymanowicz A, Cartier B, Couaillac JP, Gibaud C, Poulin G, Riviere H, et al. Proposition de commentaires interprétatifs prêts à l'emploi pour l'électrophorèse des protéines sériques. Ann Biol Clin 2006;64(4):367-80.
- [82] . Lissoir B, Wallemacq P, Maisin D. Électrophorèse des protéines sériques : comparaison de la technique en capillaire de zone Capillarys® (Sebia) et de l'électrophorèse en gel d'agarose Hudrasys® (Sebia). Ann Biol Clin 2003;61(5):557-62.
- [83] . Le Carrer D, Bach-Ngohou K. L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie clinique. Spectra Biologie 2005;(146):47-52.
- [84] . Association des collègues des enseignants d'immunologie des universités de langue française. Item 126 : Immunoglobulines monoclonales [En ligne] 2011. http://campus.cerimes.fr/immunologie/enseignement/immuno_126/site/html/cours.pdf
- [85] . Item 117 – Lupus érythémateux disséminé. Syndrome des antiphospholipides COFER, Collège Français des Enseignants en Rhumatologie <http://campus.cerimes.fr/rhumatologie/enseignement/rhumato14/site/html/6.html>

- [86] <https://medicament.ooreka.fr/astuce/voir/596307/test-de-coombs>
- [87] . P. Philippe ;2010.Conduite à tenir devant une thrombopénie .La Revue de médecine interne. 31S (2010) S324–S328
- [88] . Audia, S., Lorcerie, B., Godeau, B., & Bonnotte, B. (2011). Physiopathologie du purpura thrombopénique immunologique. *La Revue de médecine interne*, 32(6), 350-357.
- [89] . Provan D, Stasi R, Newland AC, Blanchette VS, Bolton-Maggs P, Bussel JB, et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010;115:168—86.
- [90] . Sanmarco M. Le syndrome des antiphospholipides : actualités diagnostiques. *Revue du rhumatisme* 2005 ; 72(2) : 155-8.
- [91] . Darnige L. Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides. *La revue de médecine interne* 2006 ; 27(4) : 296-301.
- [92] . Aster RH, George JN. Drug-induced thrombocytopenia. In: McCrae K, ed. *Thrombocytopenia*. New York: Marcel Dekker Inc., 2006: 145-77.
- [93] . Aster R. Drug-induced thrombocytopenia. In: Michelson A, ed. *Platelets*. New York: Academic Press, 2006: 887–902.
- [94] . Van den Bemt PM, Meyboom RH, Egberts AC. Drug-induced immune thrombocytopenia. *Drug Saf* 2004; 27:1243-52.
- [95] . Lonial S, Waller EK, Richardson PG, Jagannath S, Orłowski RZ, Giver CR, Jaye DL, Francis D, Giusti S, Torre C, Barlogie B, Berenson JR, Singhal S, Schenkein DP, Esseltine DL, Anderson J, Xiao H, Heffner LT, Anderson KC; SUMMIT/CREST Investigators. Risk factors and kinetics of thrombocytopenia associated with bortezomib for relapsed, refractory multiple myeloma. *Blood* 2005; 106:3777-3784.
- [96] . Murphy MF, Riordan T, Minchinton RM, Chapman JF, Amess JA, Shaw EJ, Waters AH. Demonstration of an immune-mediated mechanism of penicillin-induced neutropenia and thrombocytopenia. *Br J Haematol* 1983; 55:155-60.
- [97] . Aljitiawi OS, Krishnan K, Curtis BR, Bougie DW, Aster RH. Serologically documented loracarbef (Lorabid)-induced immune thrombocytopenia. *Am J Hematol* 2003; 73:41-3
- [98]. Aljitiawi OS, Krishnan K, Curtis BR, Bougie DW, Aster RH. Serologically documented loracarbef (Lorabid)-induced immune thrombocytopenia. *Am J Hematol* 2003; 73:41-3.
- [99] .Grossjohann B, Eichler P, Greinacher A, Santoso S, Kroll H. Ceftriaxone causes drug-induced immune thrombocytopenia and hemolytic anemia: characterization of targets on platelets and red blood cells. *Transfusion* 2004; 44:1033-40.
- [100] . Aster RH, Bougie DW. Drug-induced immune thrombocytopenia. *N Engl J Med* 2007; 357:580-7.
- [101] . Bougie DW, Wilker PR, Aster RH. Patients with quinine-induced immune thrombocytopenia have both drug-dependent and drug specific antibodies. *Blood* 2006; 108: 922-7.
- [102] . Peterson JA, Nelson TN, Kanack AJ, Aster RH. Fine specificity of drug-dependent antibodies reactive with a restricted domain of platelet GPIIIA. *Blood* 2008; 111:1234-9.

- [103] . Bougie DW, Wilker PR, Wuitschick ED, Curtis BR, Malik M, Levine S, Lind RN, Pereira J, Aster RH. Acute thrombocytopenia after treatment with tirofiban or eptifibatide is associated with antibodies specific for ligand-occupied GPIIb/IIIa. *Blood* 2002; 100:2071-6.
- [104] . AsterRH. Immune thrombocytopenia caused by glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. *Chest* 2005; 127:53S-9S.
- [105] . Artoni A, Li J, Mitchell B, Ruan J, Takagi J, Springer TA, French DL, Coller BS. Integrin beta3 regions controlling binding of murine mAb 7E3: implications for the mechanism of integrin alphaIIb beta3 activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:13114-20.
- [106] . Jubelirer SJ, Koenig BA, Bates MC. Acute profound thrombocytopenia following C7E3 Fab (Abciximab) therapy: case reports, review of the literature and implications for therapy. *Am J Hematol* 1999; 61:205-8.
- [107] . Dery JP, Braden GA, Lincoff AM, Kereiakes DJ, Browne K, Little T, George BS, Sane DC, Cines DB, Effron MB, Mascelli MA, Langrall MA, Damaraju L, Barnathan ES, Tchong JE. Final results of the ReoPro readministration registry. *Am J Cardiol* 2004; 93: 979-84.
- [108] . Curtis BR, Swyers J, Divgi A, McFarland JG, Aster RH. Thrombocytopenia after second exposure to abciximab is caused by antibodies that recognize abciximab-coated platelets. *Blood* 2002; 99: 2054-9.
- [109] . Curtis BR, Divgi A, Garritty M, Aster RH. Delayed thrombocytopenia after treatment with abciximab: a distinct clinical entity associated with the immune response to the drug. *J Thromb Haemost* 2004; 2:985-92.
- [110] . Mascelli MA, Lance ET, Damaraju L, Wagner CL, Weisman HF, Jordan RE. Pharmacodynamic profile of short-term abciximab treatment demonstrates prolonged platelet inhibition with gradual recovery from GP IIb/IIIa receptor blockade. *Circulation* 1998; 97:1680-8.
- [111] . Aster RH. Can drugs cause autoimmune thrombocytopenic purpura? *Semin Hematol* 2000; 37:229-38.
- [112] . Otrrock ZK, Mahfouz RA, Oghlakian GO, Salem ZM, Bazarbachi A. Rituximab-induced acute thrombocytopenia: a report of two cases. *Haematologica* 2005; 90(Suppl):E66-7.
- [113] . Vidal F, Fontova R, Richart C. Severe neutropenia and thrombocytopenia associated with infliximab. *Ann Intern Med* 2003; 139:E238-9.
- [114] . Pathare SK, Heycock C, Hamilton J. TNFalpha blocker-induced thrombocytopenia. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45:1313-14.
- [115] . Saida, M. B., & Guermazi, S. (2013). Thrombopénies induites par l'héparine. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(457), 51-59.
- [116] . Douglas MJ, Ballem PJ, Hematologic disorders. In: Obstetric anesthesia and uncommon disorders, Gambling DR, Douglas MJ, Eds WB Saunders company, 1988:307-331
- [117] . Chabert, A., Hamzeh-Cognasse, H., Cognasse, F., & Garraud, O. (2017). Plaquettes et coagulation lors d'une infection bactérienne. *Sang Thrombose Vaisseaux*, 29(2), 61-67.
- [118] . Nguyen, L., & Ozier, Y. (2008). Risques transfusionnels. *Réanimation*, 17(4), 326-338.

- [119]. Lefrère-J.-J , G. Andreu c, F. Arnaud d, C. Barisien e, F. Bijou f, J.-M. Boiron, et al. Transfusion sanguine (II). Sécurité, pratique clinique et événements indésirables. EMC-Hématologie 2012 ;7(3) :1-21.
- [120] . Federici, L., Serraj, K., Maloysel, F., & Andrés, E. (2008). Thrombopénie et grossesse: du diagnostic étiologique à la prise en charge thérapeutique. *La Presse Médicale*, 37(9), 1299-1307
- [121] . Schaal, J. V., Fischer, C., Boyer, K., & Mercier, F. J. (2012). Thrombopénie et grossesse. *Le Praticien en anesthésie réanimation*, 16(6), 323-334.
- [122] . Kaplan, C. "Les thrombopénies foetales et néonatales allo-immunes." *Transfusion clinique et biologique* 16.2 (2009): 214-217.
- [123] . Bollaert, P. E., Annane, D., Aube, H., Bedos, J. P., Cariou, A., Du Cheyron, D., ... & Legras, A. (2002). Coagulations intravasculaires disséminées (CIVD) en réanimation: définition, classification et traitement (à l'exception des cancers et hémopathies malignes). *Réanimation*, 11(8), 567-574.
- [124] . Coppo P, Veyradier A. Microangiopathies thrombotiques : physiopathologie, diagnostic et traitement. *Reanimation* 2005;14:594—603
- [125] . Schleinitz, N., Poullin, P., Camoin, L., Veit, V., Bernit, E., Mazodier, K., ... & Harlé, J. R. (2008). Le purpura thrombotique thrombocytopénique acquis de l'adulte: actualités. *La Revue de médecine interne*, 29(10), 794-800.
- [126] . Frémeaux-Bacchi, V., Fakhouri, F., Roumenina, L., Dragon-Durey, M. A., & Loirat, C. (2011). Syndrome hémolytique et urémique lié à des anomalies du complément. *La Revue de médecine interne*, 32(4), 232-240.
- [127] . Le Nouail, P., Viseux, V., & Enjolras, O. (2007, June). Phénomène de Kasabach-Merritt. In *Annales de dermatologie et de vénéréologie* (Vol. 134, No. 6-7, pp. 580-586). Elsevier Masson.
- [128] . Miller RD, Robbins TO, Tong MJ, Barton SL, (1971) Coagulation defects associated with massive blood transfusions. *Ann Surg* 174: 794-801
- [129] . Hardy J.F., P. de Moerloose b, C.M. Samama c, et le Groupe d'Intérêt en hémostase périopératoire (GIHP) Transfusion massive et dysfonction hémostatique physiopathologie et gestion clinique .Elsevier SAS. *Réanimation* 13 (2004) 477–483
- [130] . INSUFFISANCE MÉDULLAIRE, Encyclopædia Universalis [en ligne], consulté le 14 juin 2019. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/insuffisance-medullaire/>
- [131] . Socié, G., Ferry, C., Robin, M., & Mary, J. Y. (2005). Aplasies médullaires acquises. *EMC-Hématologie*, 2(2), 113-131.
- [132] . Es-Seddiki, A., Ayyad, A., Messouadi, S., & Amrani, R. (2015). La maladie de Fanconi: à propos d'une nouvelle observation. *Pan African Medical Journal*, 20(1).
- [133] . Eisner EV, Shahidi NT. Immune thrombocytopenia due to a drug metabolite. *N Engl J Med* 1972; 287:376-81.

- [134] . Bougie DW, Benito AI, Sanchez-Abarca LI, Torres R, Birenbaum J, Aster RH. Acute thrombocytopenia caused by sensitivity to the glucuronide conjugate of acetaminophen. *Blood* 2007; 109:3608-9.
- [135] . Schmitt SK, Tomford JW. Quinine-induced pancytopenia and coagulopathy. *Ann Intern Med* 1994; 120:90-1.
- [136] . Ray JB, Brereton WF, Nullet FR. Intravenous immune globulin for the treatment of presumed quinidine-induced thrombocytopenia. *DICP* 1990; 24:693-5.
- [137] . Herrington A, Mahmood A, Berger R. Treatment options in sulfamethoxazole–trimethoprim-induced thrombocytopenic purpura. *South Med J* 1994; 87:948-50. Pourrat O. Treatment of drug-related diseases by plasma exchanges. *Ann Med Interne (Paris)* 1994; 145: 357–60.
- [138] . Priziola JL, Smythe MA, Dager WE. Drug-induced thrombocytopenia in critically ill patients. *Crit Care Med* 2010 ; 38: S145-54.
<http://www.fmdrabat.ac.ma/wjd/V5N1/vol5%20n1%20juin2010.pdf>
- [139] . Boutroux, H., Favier, R., Héritier, S., Lapillonne, H., Ballerini, P., & Leverger, G. (2018). Mise au point: les thrombopénies constitutionnelles. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 31(3), 160-167.
- [140] . Elalamy I. Thrombopathies acquises et congénitales. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie* 2006 ; 13-021-A-10.
- [141] . Reddy DS. The pathophysiological and pharmacological basis of current drug treatment of migraine headache. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2013 ; 6(3) : 271–88.
- [142] . Delobel J. Thrombopénies (à l'exception des purpuras thrombopéniques idiopathiques et des purpuras thrombotiques thrombocytopéniques). *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie* 1997 ; 13-020-B-10.
- [143] . Leverger, G., Petit, A., Fasola, S., Landman-Parker, J., & Favier, R. (2010). Les thrombopénies génétiques. *Archives de pédiatrie*, 17(8), 1185-1191.
- [144] . Janssens AM, Offner FC, Van Hove WZ, (2000) Bone marrow necrosis. *Cancer* 88: 1769-1780
- [145] . Gouault-Heilmann M. Aide-mémoire d'hémostase. Paris : Flammarion ; 1999.
- [146] . Mufti GJ. Pathobiology, classification, and diagnosis of myelodysplastic syndrome. *Best Pract Res Clin Haematol* 2004;17:543-57
- [147] . Philippe. P. 2010 Conduite à tenir devant une thrombopénie. *La revue de médecine interne*; 31:159-82.
- [148] . Bierling, P. (2009). Transfusion de concentrés plaquettaires. *Transfusion clinique et biologique*, 16(2), 190-194.
- [149] . Wautier JL. Les tests immunologiques plaquettaires. *Transfusion clinique et biologique* 2000 ; 7 suppl 1: 69-71.
- [150] . Lévy G. Anomalies préopératoires de l'hémostase. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Anesthésie-Réanimation* 1996 ; 36-657-L-10.

- [151] . Blanchette V. Childhood Immune Thrombocytopenic Purpura: Diagnosis and Management. *Pediatric clinics of north America* 2008; 55(2): 393-420
- [152] . Godeau B. Purpura thrombopénique auto-immun. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie* 2008 ; 13-020-C-10.
- [153] . Suarez F. Cytopénies auto-immunes périphériques. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Réanimation* 2005 ; 14(7) : 587-93.
- [154] Crosby WH. Editorial: Wet purpura, dry purpura. *JAMA* 1975; 232:744-5.
- [155] . Nathan N. Trouble de l'hémostase aux urgences. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Médecine d'urgence* 2007 ; 25-080-A-20.
- [156] . Fouassier M, Quainon F, Serre AF et Souweine B. Traitement substitutif symptomatique des CIVD (à l'exclusion des antithrombine et protéine C). *Réanimation* 2002 ; 11(8) : 629-37.
- [157] . Meyer O. Physiopathologie du syndrome des antiphospholipides et aspects thérapeutiques. *Revue du rhumatisme* 2007 ; 74(8) : 751-8.
- [158] . Wahl D. Traitement des complications thrombotiques du syndrome des anticorps antiphospholipides : éclairages des essais thérapeutiques récents et zones d'ombre. *La revue de médecine interne* 2008 ; 29(9) : 731-4.
- [159] . McCrae KR. Thrombocytopenia in pregnancy: differential diagnosis, pathogenesis, and management. *Blood Rev* 2003;17:7—14.
- [160] . Kaufman DW, Kelly JP, Johannes CB, Sandler A, Harmon D, Stolley PD, Shapiro S. Acute thrombocytopenic purpura in relation to the use of drugs. *Blood* 1993; 82:2714-18.
- [162] . <http://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-thrombopenie-8917>
- [163] . <http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/thrombocytopenie/16572>
- [164] . Bussel JB. « Therapeutic approaches to secondary immune thrombocytopenic purpura » *Semin Hematol.* 2009;46(1 Suppl 2):S44-S58.
- [161] . EZ-ZAKY, S. (2018). Diagnostic de la thrombopénie chez l'adulte (Doctoral dissertation).

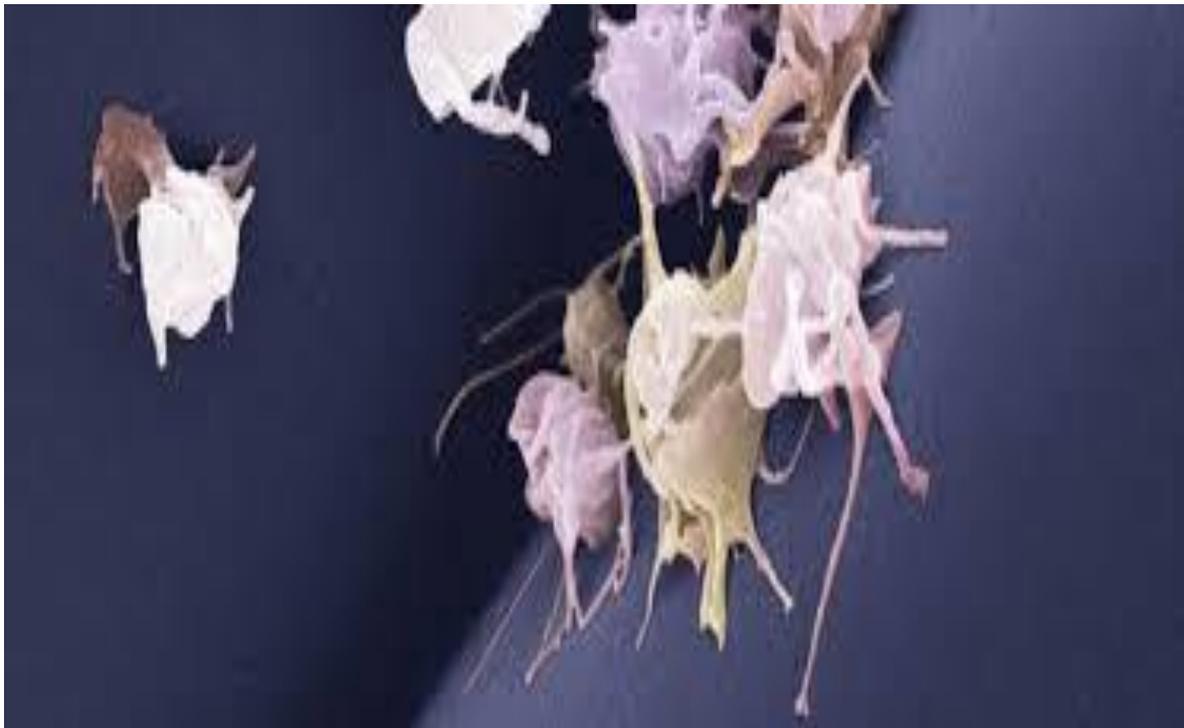
REFERANCES DES
FIGURES ET DES
TABLEAUX

- A . <https://mhemmo.fr/les-pathologies/les-pathologies-plaquettaires/>
- B . Cramer-Bordé E. Production plaquettaire : régulation cellulaire et moléculaire. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie 2008 ; 13-019-A-40.
- C . Elalamy I. Thrombopathies acquises et congénitales. Encyclopédie Médico- Chirurgicale, Hématologie 2006 ; 13-021-A-10.
- D . Jandrot-Perrus, M., & Nurden, P. (2010). Des fonctions plaquettaires aux implications thérapeutiques. La Revue de médecine interne, (31), S319-S323.
- E . Etalamy .I, MM samama . Physiologie de l'hémostase. Encyclopédie Médico-chirurgicale 2001 ,6p ; 19-0100.
- F . Bull. Acad. Natle Méd., 2013, 197, no 2, 361-373, séance du 26 février 2013
- G . Delmer. A.Thrombopénie : physiopathologie et conduite à tenir. SRLF. Actual. Réanim. Urg. 1996:159-82.
- H . BIERLING, P. (2005). Thrombopénie Orientation diagnostique. La Revue du praticien, 55(12), 1355-1361.
- I . Granat, F. (2016). Agrégation plaquettaire in vitro: effets anticoagulants du CTAD et utilisation à des fins diagnostiques dans les espèces sensibles (Doctoral dissertation).
- J . Anne Tessier-Marteau ,Franck Geneviève,Alban Godon,Laurent Macchi,Marc Zandecki Laboratoire d'hématologie, CHU d'Angers.anmarteau@chu-angers.fr .
- K . Hézard N, Simon G, Droullé A, Nguyen P. La cytométrie en flux dans un laboratoire d'hémostase. Revue Francophone des Laboratoire, juin 2007. N° 393.
- L . Cai, H. (2015). Diagnostic des pathologies plaquettaires: optimisation de l'exploration des granules denses plaquettaires (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- M . Aster RH, Curtis BR, Macfarland JG, Bougie DW Drug induced immune thrombocytopenia :pathogenesis, diagnosis and management JTH 2009; 7:911-1845.
- N . Serraj, K., Mecili, M., Aouni, M., Maaouni, A., & Andrès, E. (2009). Les thrombopénies médicamenteuses idiosyncrasiques. La Revue de médecine interne, 30(10), 866-871.
- O . Saida, M. B., & Guermazi, S. (2013). Thrombopénies induites par l'héparine. Revue Francophone des Laboratoires, 2013(457), 51-59.
- P . VALENSI, F. Morphologie des cellules sanguines normales. EMC-Hématologie, 2005, vol. 2, no 1, p. 1-13.

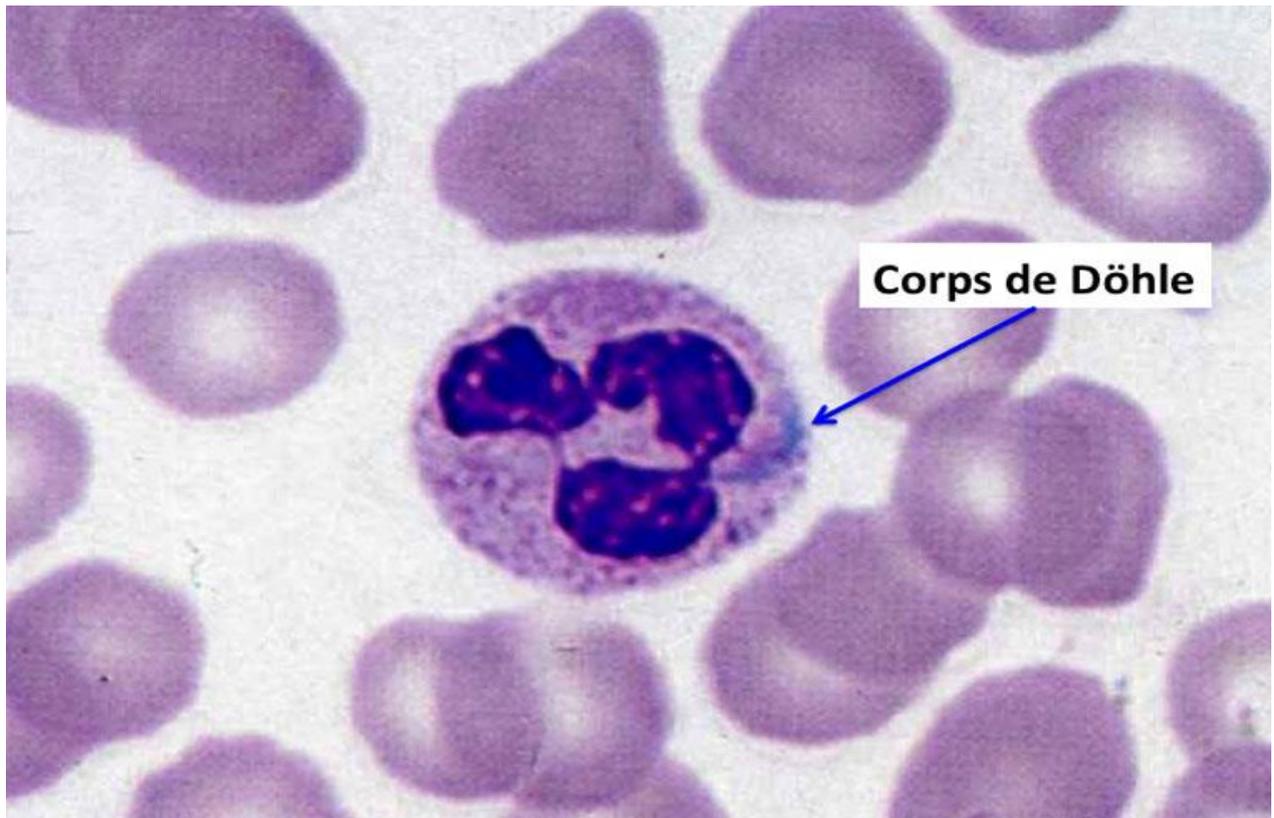
Annexes



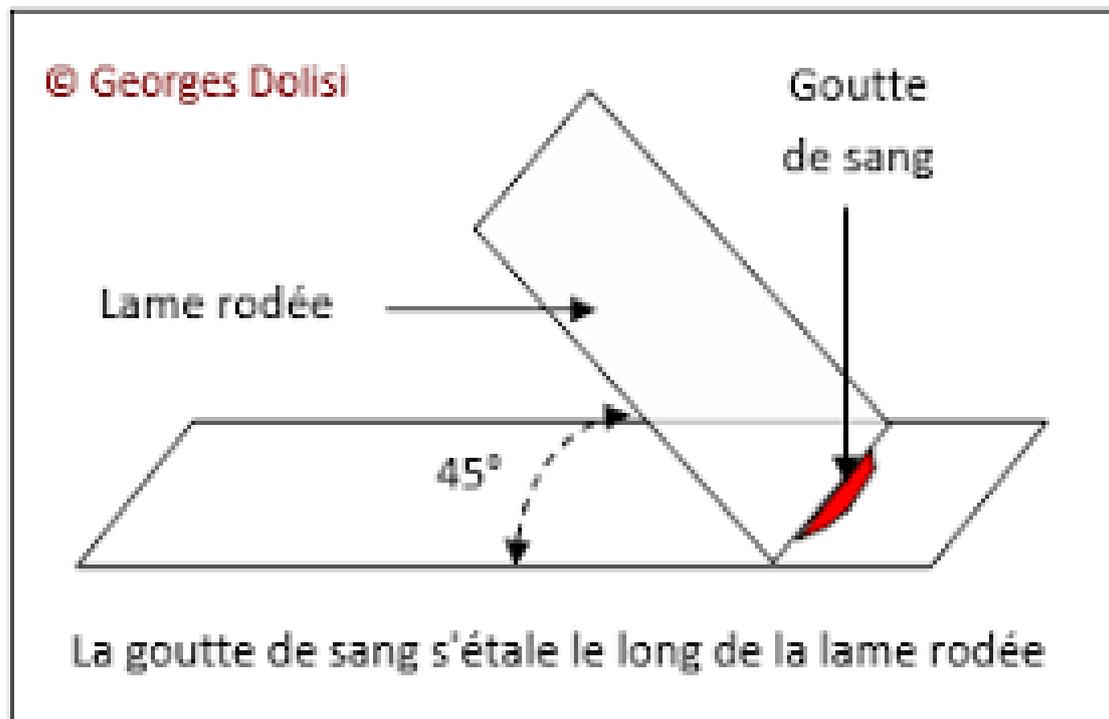
Annexe1 : plaquette sanguine



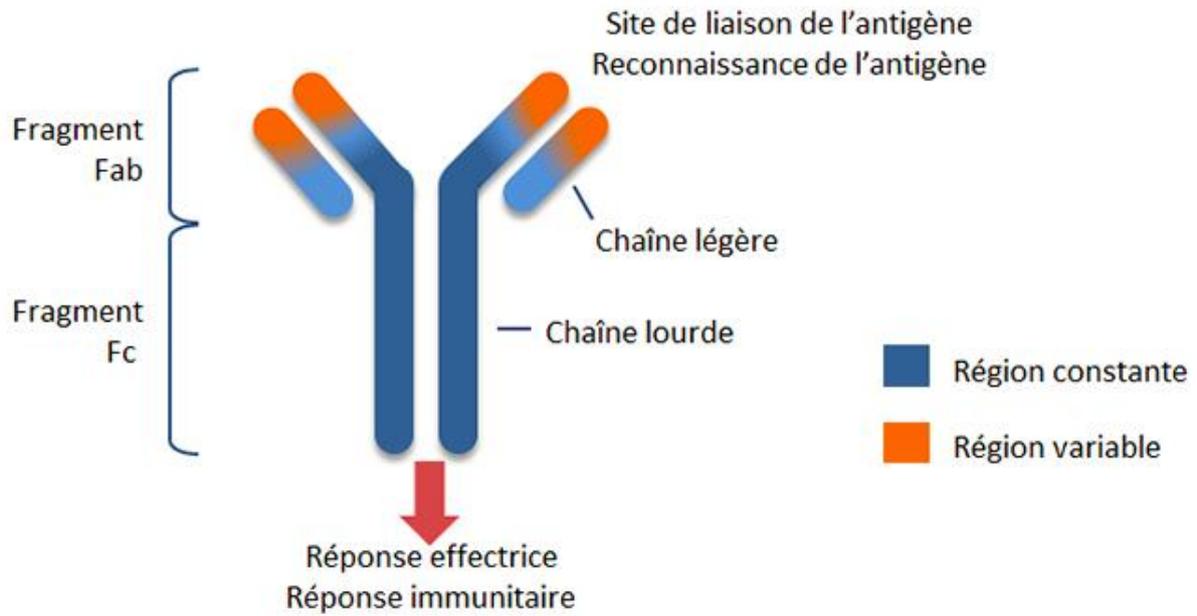
Annexe 2 : aggrégation plaquettaire



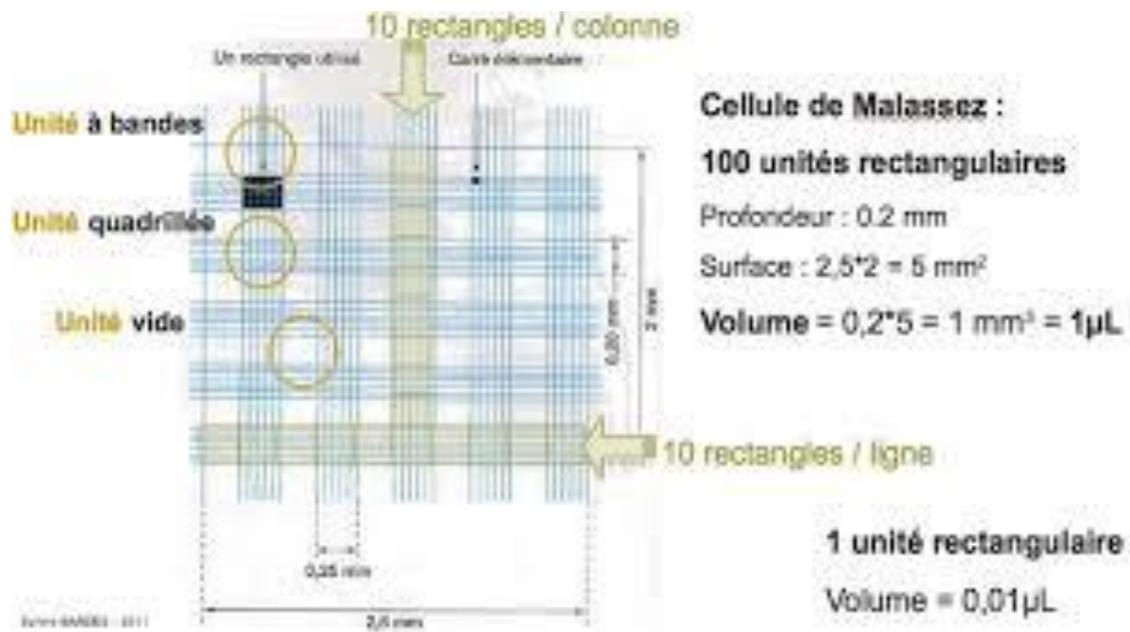
Annexe 2 : corps de dohle



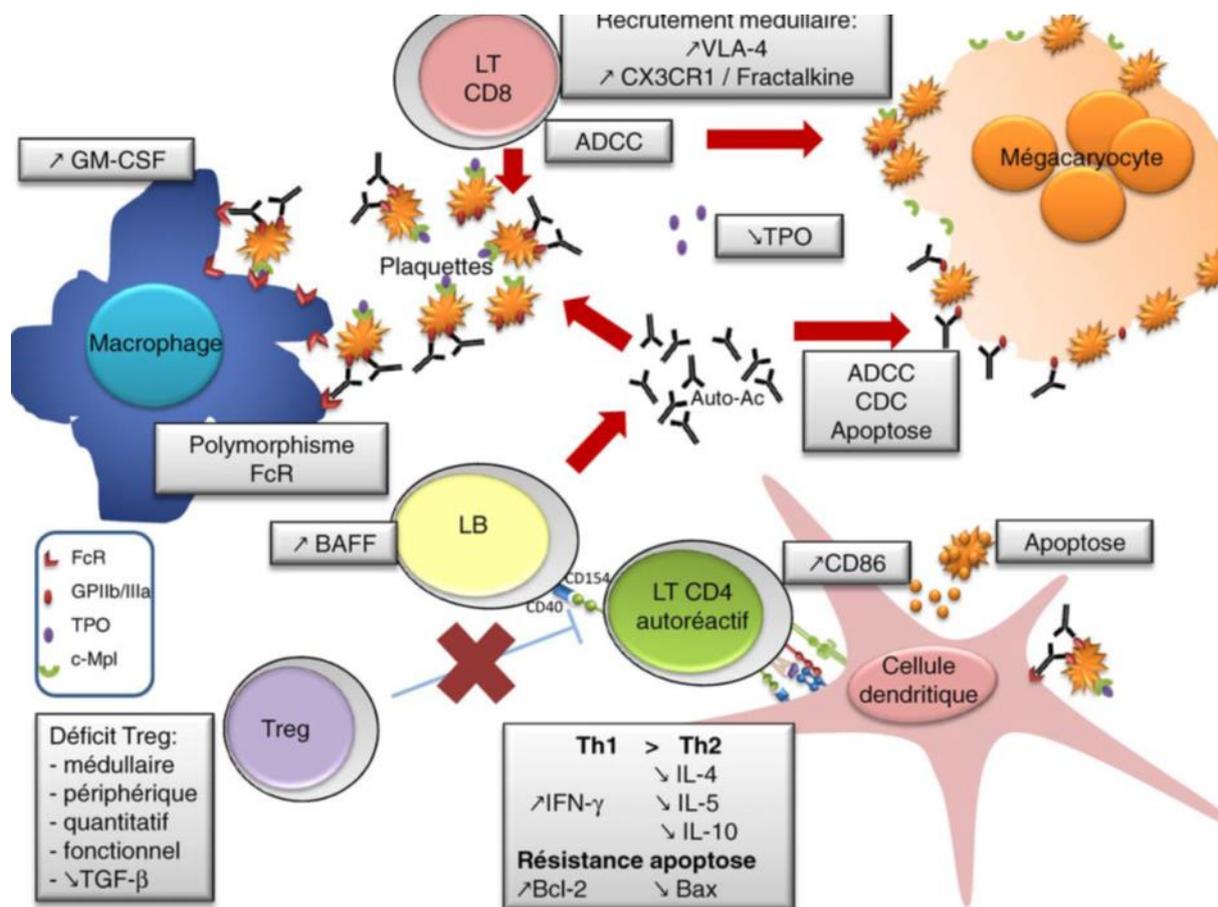
Annexe 3 : frottis sanguin



Annexe 4 : schéma d'un anti-corps



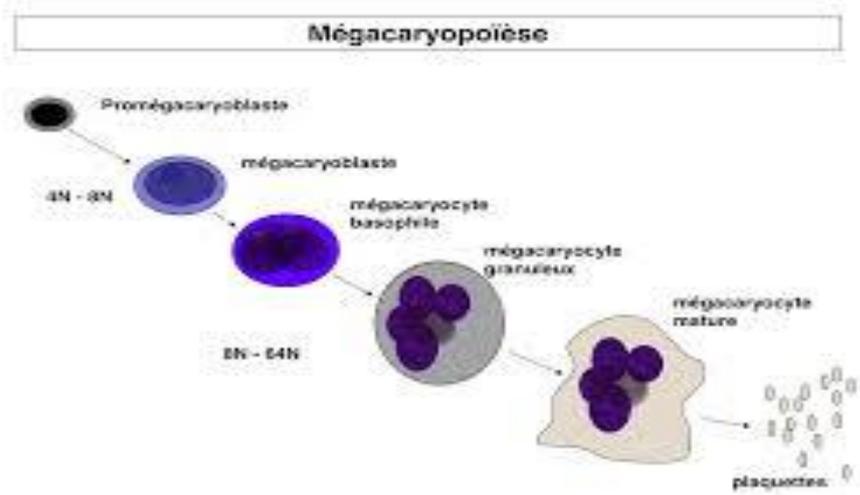
Annexe 5 : cellule malassez



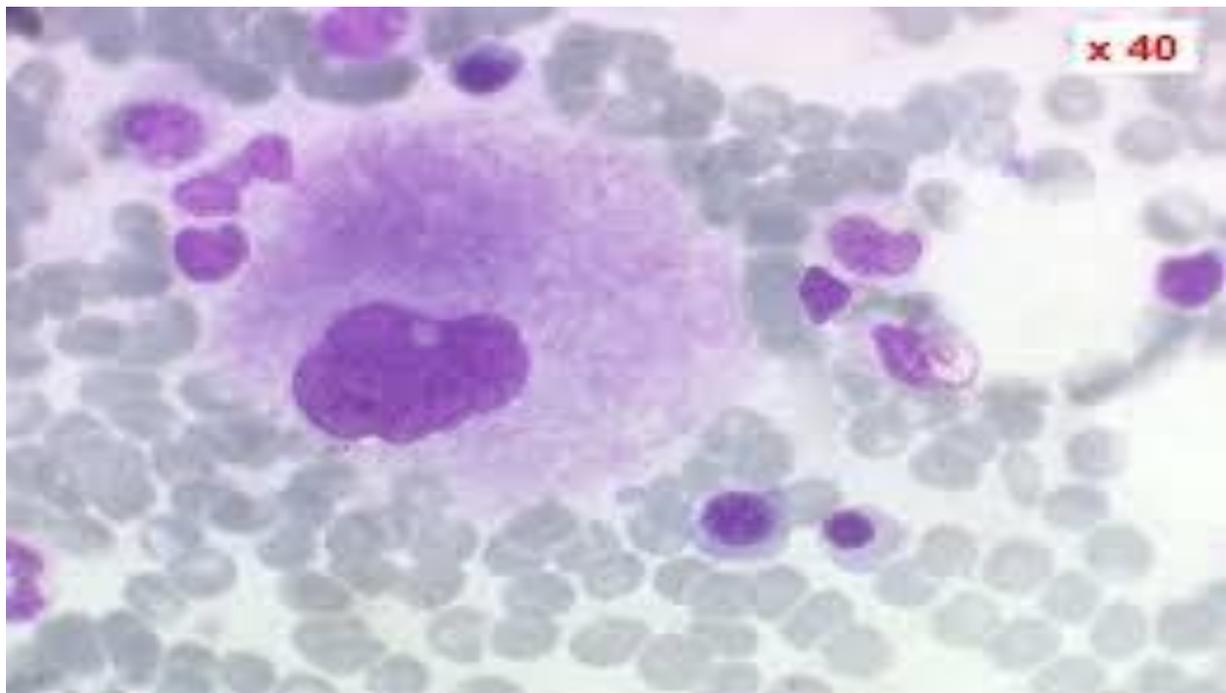
Annexe 6 : influence de l'héparine sur les plaquettes



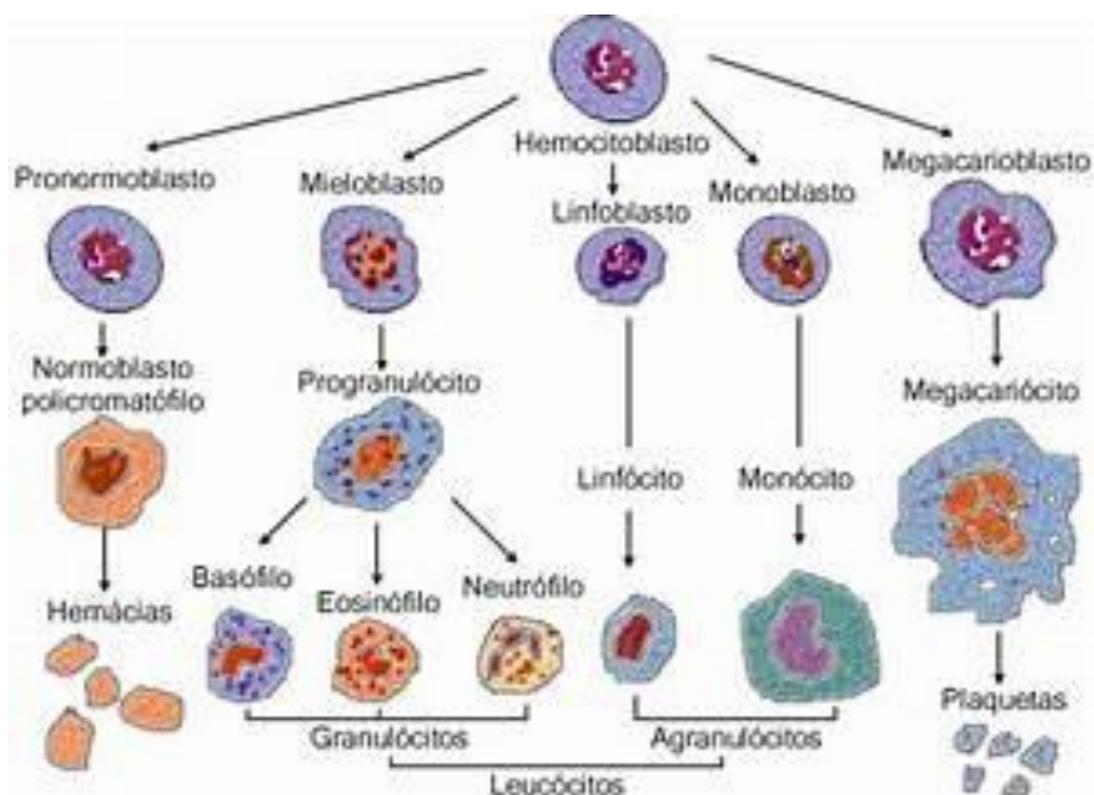
Annexe: 7 microscope optique



Annexe 9 : mégacaryopoïèse



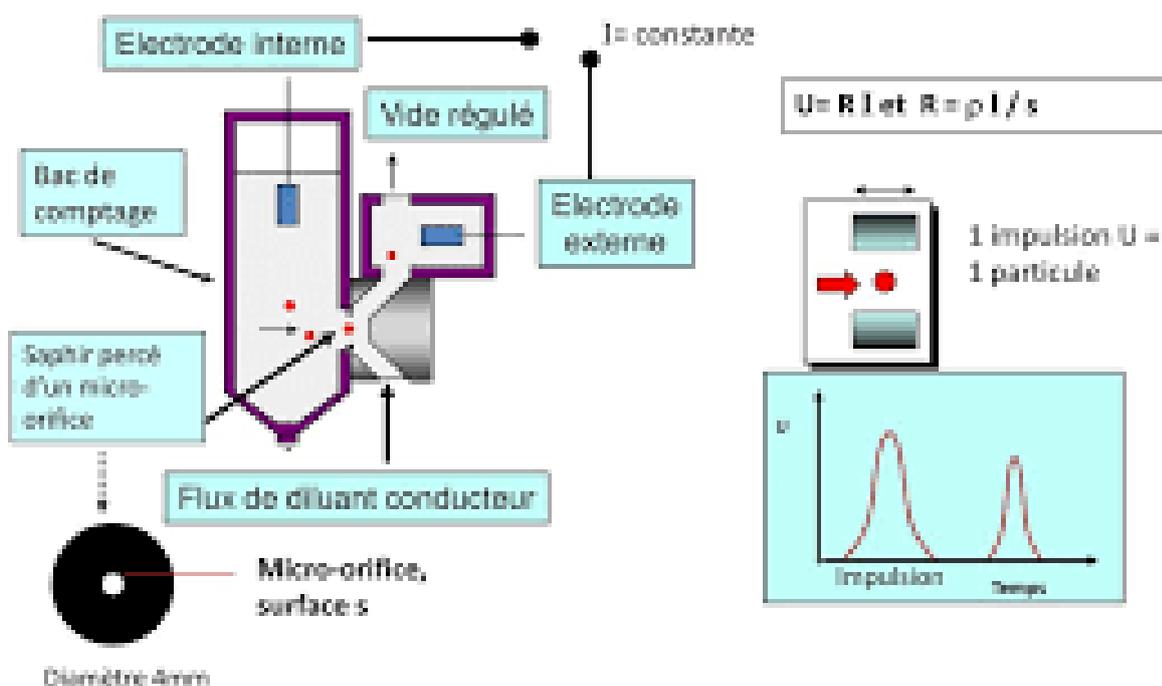
Annexe 10 : magacaryocyte



Annexe12 : hématopoïèse

PRINCIPE DE MESURE PAR LA VARIATION D'IMPEDANCE

La valeur de l'impulsion U est proportionnelle au volume cellulaire



Annexe 13: principe par mesure d'impédance