



Fiche internat– AssHIB
Exploration de l'hémostase primaire
Date de validation : Février 2019

Introduction

L'hémostase est un processus permettant de garder le sang à l'état fluide dans les vaisseaux, et permet de concourir à l'arrêt du saignement en cas de brèche (lésion) vasculaire mais aussi de limiter la survenue de thromboses. Elle se décompose en trois temps : l'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse. L'hémostase primaire comporte une vasoconstriction, puis l'adhésion plaquettaire au sous-endothélium mis à nu, suivie de l'activation et l'agrégation plaquettaire. Elle aboutit à la formation du thrombus « blanc », à prédominance plaquettaire, grâce à quatre acteurs principaux : deux types cellulaires, les plaquettes et les cellules endothéliales, et deux protéines plasmatiques, le facteur Willebrand (VWF) et le fibrinogène.

Les 4 acteurs de l'hémostase primaire

1. Cellules endothéliales : Les cellules endothéliales constituent une monocouche tapissant la paroi vasculaire. À l'état physiologique, l'endothélium est caractérisé par une non-thrombogénicité : il exprime des propriétés antiplaquettaires, anticoagulantes et donc antithrombotiques, qui peuvent être modifiées lors de circonstances pathologiques.

2. Plaquettes : Les plaquettes circulent à l'état non activé. Elles expriment à leur surface des récepteurs impliqués dans l'adhésion, l'activation ou l'agrégation plaquettaire. On distingue deux types de récepteurs :

- des intégrines, dont les plus importantes sont la glycoprotéine GPIb, qui lie le VWF, et le complexe glycoprotéique GPIIb/IIIa (ou $\alpha IIb\beta_3$), qui lie principalement le fibrinogène
- des récepteurs à 7 domaines transmembranaires, couplés à des protéines G, comme le récepteur à la thrombine ou à l'ADP.

Les plaquettes, lorsqu'elles sont activées en réponse à différents stimuli, sont capables de changer de forme et de libérer le contenu de leurs granules de stockage (VWF, ADP, etc.).

3. Facteur Willebrand : Le VWF est une protéine multimérique, circulant complexée avec le facteur VIII (FVIII, facteur antihémophilique A) ; sa taille est régulée par une métalloprotéinase, ADAMTS13, qui clive les multimères de très haut poids moléculaire. Le VWF, notamment présent au niveau du sous-endothélium, constitue une sorte de « colle » pour les plaquettes qui s'y fixent par l'intermédiaire de la GPIb. Pour exercer ce rôle, le VWF change de forme et s'étire, ce qui lui permet d'augmenter le nombre de sites de liaison aux plaquettes.

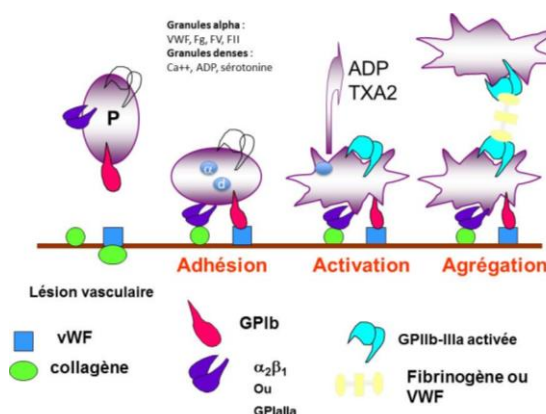
4. Fibrinogène : Le fibrinogène est synthétisé par le foie et a un rôle clé dans l'étape d'agrégation plaquettaire, en formant des ponts entre les GPIIb/IIIa de différentes plaquettes (le VWF jouant également ce rôle dans la micro-circulation).

Le déroulement du processus : 4 temps

Le déroulement de l'hémostase primaire comprend, schématiquement, quatre temps : un temps vasculaire, un temps d'adhésion plaquettaire, un temps d'activation plaquettaire et l'agrégation plaquettaire.

1. Temps vasculaire : Il comporte une vasoconstriction quasi immédiate (réflexe) favorisée par des médiateurs d'origine plaquettaire, endothéliale ou neurovégétative. Cette vasoconstriction a pour effet de réduire voire d'arrêter le flux sanguin et donc d'assurer une hémostase initiale.

2. Adhésion plaquettaire : L'adhésion résulte d'une interaction entre les plaquettes et le sous-endothélium auquel elles se fixent. La fixation se fait essentiellement par l'intermédiaire du VWF qui établit un pont entre les GPIb plaquettaires et le



sous-endothélium. Le collagène du sous-endothélium joue également un rôle important dans l'adhésion plaquettaire en se fixant à des glycoprotéines plaquettaires et au VWF.

3. Activation des plaquettes : Lors de cette phase, les plaquettes changent de forme avec émission de pseudopodes et libération du contenu de leurs granules. La bicouche phospholipidique des plaquettes subit un réarrangement (flip-flop ou « inside-out »), avec exposition de PL négatifs pro-coagulants. Ce réarrangement est associé à la synthèse de TXA2 à partir des PL, et par la voie de synthèse des prostaglandines.

4. Agrégation plaquettaire : L'activation plaquettaire induit un changement de conformation de la GPIIb/IIIa, qui peut alors fixer le fibrinogène en présence de calcium, entraînant ainsi l'agrégation plaquettaire.

Exploration de l'hémostase primaire

1. Numération plaquettaire : Cet examen fait partie de tout bilan d'hémostase et doit être réalisé en première intention sur tube EDTA. La numération plaquettaire normale est de 150 à 450 giga/l. Chez certains individus, il peut exister une fausse thrombopénie (pseudo-thrombopénie) sur tube EDTA, responsable d'aucune pathologie mais induisant des résultats erronés. Ainsi, devant toute thrombopénie sur EDTA, l'absence d'amas doit être vérifiée sur frottis. En cas d'agrégats, un contrôle sur un deuxième tube EDTA ou sur tube citraté est nécessaire. L'analyse morphologique des plaquettes sur frottis sanguin à la recherche d'amas plaquettaires, d'une anomalie de taille ou de structure est indispensable en cas de thrombopénie ou lorsque l'on suspecte une thrombopathie.

2. Temps d'occlusion plaquettaire : Le temps d'occlusion plaquettaire, réalisé sur sang total avec un appareil spécifique (le PFA®), est un test évaluant de façon globale l'hémostase primaire, qui est très sensible aux déficits en VWF. Il peut donc être utilisé pour le dépistage de cette maladie, mais il est peu sensible pour la détection de certaines thrombopathies.

3. Dosage du facteur Willebrand : Il doit associer une méthode immunologique à l'aide d'anticorps spécifiques permettant de mesurer le VWF antigénique (VWF:Ag), et une méthode fonctionnelle permettant de mesurer l'activité du VWF comme l'activité cofacteur de la ristocétine. La ristocétine est un antibiotique entraînant une agglutination des plaquettes en présence de VWF (mesure du VWF:RCo). L'exploration du VWF doit comporter systématiquement un dosage du VWF:RCo, du VWF:Ag et de l'activité coagulante du FVIII (FVIII:C), dont le VWF est la molécule porteuse qu'il protège de la protéolyse.

4. Dosage du fibrinogène : Un déficit profond en fibrinogène (afibrinogénémie) ou une anomalie de sa fonction (dysfibrinogénémie) peut être à l'origine d'un défaut de l'hémostase primaire et sera également associé à une anomalie de la coagulation plasmatique.

5. Autres tests :

Étude des fonctions plaquettaires par agrégométrie photométrique : Dans certains cas, il est nécessaire, pour étudier les fonctions plaquettaires, d'avoir recours à des tests ex vivo qui sont du ressort d'un laboratoire spécialisé. Le test de référence est l'agrégométrie, qui consiste à étudier l'agrégation plaquettaire en présence d'inducteurs spécifiques : ADP, collagène, ristocétine, thrombine, acide arachidonique, notamment. Ces tests sont indispensables au diagnostic d'une thrombopathie.

Étude des récepteurs membranaires plaquettaires par cytométrie en flux : La cytométrie en flux est une technique permettant d'identifier certaines cellules après les avoir marquées avec des anticorps spécifiques. Elle permet de quantifier les récepteurs membranaires essentiels que sont GPIIb/IIIa ou GPIb, ou de mesurer l'état d'activation plaquettaire.