

1. Plaquettes et hémostase primaire	15	
1.1. Temps vasculaire : la vasoconstriction		15
1.2. Temps plaquettaire	16	
1.2.1. L'adhésion plaquettaire	17	
1.2.1.1. Mécanisme général	17	
1.2.1.2. L'activation plaquettaire	18	
1.2.2. L'agrégation plaquettaire : aspects métaboliques		22
1.2.2.1. Métabolisme de l'acide arachidonique		22
1.2.2.2. Rôle de l'AMPc intraplaquettaire		24
2. Plaquettes et hémostase secondaire	27	
2.1. Les facteurs de l'hémostase secondaire		27
2.2. Déroulement de l'hémostase secondaire		29
2.2.1. La génération de thrombine	29	
2.2.1.1. La lésion pariétale	30	
2.2.1.2. Le complexe prothrombinase	30	
2.2.1.3. Les boucles de rétro-activation	31	
2.2.1.4. L'activation du facteur IX	31	
2.2.2. La transformation du fibrinogène en fibrine		32
2.2.3. Exploration de l'hémostase secondaire	33	
2.2.3.1. Le temps de Quick	34	
2.2.3.2. Le temps de thromboplastine partiellement activée		35
2.2.3.3. Le temps de thrombine	35	
2.2.3.4. La fibrinogénémie	36	
2.3. Régulation de l'hémostase secondaire		37
2.3.1. L'antithrombine III	37	
2.3.2. Le système protéine C	38	
2.3.3. Autres molécules impliquées dans la régulation de la génération de thrombine	38	
3. Plaquettes et fibrinolyse	41	
3.1. Régulation du système fibrinolytique		41
3.1.1. Les activateurs du plasminogène	41	
3.1.2. Les inhibiteurs du système fibrinolytique		43
3.2. Plaquettes et fibrinolyse	44	
3.2.1. Activité profibrinolytique des plaquettes		44
3.2.2. Activité antifibrinolytique des plaquettes		45
4. Plaquettes et rétraction du caillot	47	
5. Plaquettes et réparation tissulaire	49	
5.1. Facteurs de croissance plaquettaires		49
5.2. Le TGF-β	49	
6. Plaquettes et inflammation	51	
6.1. Plaquettes et paroi vasculaire	51	
6.2. Plaquettes, monocytes et macrophages		52
6.3. Plaquettes et neutrophiles	53	
6.4. Plaquettes, inflammation et microorganismes		54
7. Plaquettes et défense de l'organisme contre les microorganismes		57
7.1. Plaquettes et bactéries	57	
7.2. Plaquettes et virus	58	

CHAPITRE 2 : PATHOGENIE DES DESORDRES PLAQUETTAIRES LORS DE PROCESSUS TUMORAL 61

1. Thrombocytopénie	63	
1.1. Réduction de la thrombopoïèse		63
1.1.1. Myéloptisie	63	
1.1.2. Myélodysplasie		64
1.1.3. Les tumeurs sécrétantes d'œstrogènes		66
1.1.4. Thrombocytopénie induite par chimiothérapie		67
1.1.5. Infections compliquant ou accompagnant un cancer		69
1.2. Augmentation de la destruction plaquettaire		69
1.2.1. Destruction à médiation immune	69	
1.2.1.1. Mécanismes	69	
1.2.1.2. Diagnostic	69	
1.2.1.3. Anti-corps et immuns-complexes		75
1.2.1.4. Traitements	78	
1.2.2. Augmentation du turn-over plaquettaire		79
1.2.2.1. Mécanismes		80
1.2.2.2. Traitement	80	
1.2.3. Microangiopathie	81	
1.2.3.1. Mécanismes		81
1.2.3.2. Diagnostic et traitement		82
1.3. Excès de consommation	83	
1.3.1. La coagulation intravasculaire disséminée		83
1.3.1.1. Définition, diagnostic et épidémiologie		83
1.3.1.2. Mécanismes		86
1.3.1.3. Clinique et conséquences		88
1.3.1.4. Traitement	90	
1.3.2. Hémorragie associée à la tumeur		93
1.4. Séquestration plaquettaire		93
1.4.1. Splénomégalie et hépatomégalie		93
1.4.2. Séquestration plaquettaire et thrombopoïèse ; rôle de la thrombopoïétine		94
2. Thrombocytose	97	
2.1. Désordres myéloprolifératifs		97
2.2. Thrombocytose idiopathique associée à une tumeur		98
2.3. Effet sur-compensatoire d'une thrombocytopénie		98
2.4. Thrombocytose induite par les alcaloïdes de la pervenche		99
2.5. Splénectomie	100	
2.6. Déficience en fer		100
3. Dysfonctionnement plaquettaire	101	
3.1. Hypofonctionnement plaquettaire		101
3.1.1. Maladie acquise de Von Willebrand		101
3.1.2. Dysprotéïnémie	102	
3.1.3. Désordres myéloprolifératifs et myélodysplasiques		103
3.1.4. Dysfonctionnement plaquettaire à médiation immune		107
3.1.5. Les alcaloïdes de la pervenche		108
3.1.6. Autres cas	109	
3.2. Hyperfonctionnement plaquettaire		110
3.2.1. Désordres myéloprolifératifs et anomalies plaquettaires		

intrinsèques	110	
3.2.1.1. Anomalies membranaires plaquettaires	110	
3.2.1.2. Métabolisme de l'acide arachidonique anormal	113	
3.2.2. Hyperagrégabilité par activation plaquettaire extrinsèque		114
3.2.2.1. Activité thromboplastine-like	114	
3.2.2.2. Le procoagulant tumoral	115	
3.3. Diagnostic d'une thrombocytopathie		116
3.3.1. Le temps de rétraction du caillot	116	
3.3.2. Le temps de saignement	117	
3.3.3. Mesure de l'adhésivité plaquettaire	118	
3.3.4. Mesure de l'agrégation plaquettaire	118	
3.3.5. Electrophorèse des glycoprotéines	118	
3.4. Agents modifiant le fonctionnement plaquettaire : perspectives de traitement		119
3.4.1. Les antiplaquettaires	119	
3.4.1.1. Mécanismes d'action	119	
3.4.1.2. Les molécules	120	
3.4.1.3. Utilisation des antiplaquettaires dans le cadres des thrombocytopathies d'origine cancéreuse		122
3.4.2. L'interleukine 6 : augmentation de la réactivité plaquettaire		123

CHAPITRE 3 : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DES DESORDRES PLAQUETTAIRES LORS DE PROCESSUS TUMORAL 129

1. Epidémiologie de la thrombocytopénie	129
1.1. Importance de l'étiologie tumorale dans la pathogénie d'une thrombocytopénie	129
1.1.1. Prévalence de l'étiologie tumorale chez les chiens thrombocytopéniques (population= chiens thrombocytopéniques)	129
1.1.2. Prévalence de la thrombocytopénie au cours d'un processus tumoral (population= chiens à processus tumoraux)	131
1.2. Influence du type tumoral sur la thrombocytopénie	133
2. Epidémiologie de la thrombocytose	137
3. Epidémiologie des dysfonctionnements plaquettaires	137

CHAPITRE 4 : PLAQUETTES, CROISSANCE TUMORALE ET PRONOSTIC DE LA MALADIE 139

1. Plaquettes et métastases	141
1.1. Pathogénie de la métastase	141
1.1.1. Les étapes de la formation d'une métastase	141
1.1.2. L'angiogenèse tumorale	143
1.2. Activation des plaquettes par les cellules tumorales	147
1.3. Promotion de la dissémination tumorale par les plaquettes	148
1.3.1. Mécanismes de renforcement du processus de croissance et de dissémination tumorale par les plaquettes	148
1.3.2. Les anti-plaquettaires en tant qu'agents anti-métastatiques	150
1.3.3. Inhibition de l'interaction plaquette-cellule tumorale par l'héparine et potentiel effet anti-métastatique	152
2. Paramètres plaquettaires et pronostic d'un processus tumoral	153
2.1. La numération plaquettaire	154
2.2. La mesure du turn-over plaquettaire	155
2.3. Autres paramètres	155

CONCLUSION

157

BIBLIOGRAPHIE

159

INDEX

α2-antiplasmine	p 43, 45, 119
α2-macroglobuline	p 43
β-lysine	p 57
β-thromboglobuline	p 10, 155
AAS (Acide Acétylsalicylique)	p 92, 120
Abciximab	p 122
Acide arachidonique	p 23, 113
Adénylcyclase	p 26, 110
ADP	p 106
Adrénaline	p 106
AMPC	p 24, 119
Angiostatine	p 145
AT III (Antithrombine III)	p 37, 83, 91
Cisaprost	p 151
CIVD (Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée)	p 83
CIVL (Coagulation Intra-Vasculaire Localisée)	p 86
Cofacteur II de l'héparine	p 40
Collagène	p 106
Cyclooxygénase	p 24
Cystéine protéase	p 115
Desmopressine	p 102, 126
Dysintégrines	p 152
EDRF (Endothelium Derived Relaxing Factor)	p 15
EGF (Epithelium Growth Factor)	p 49, 143
ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)	p 73
Endothéline	p 15
F I (Facteur I= fibrinogène)	p 28
F II (Facteur II= prothrombine)	p 28, 91
F III (Facteur III= FT)	p 27, 86
F IX (Facteur IX= antihémophilique B)	p 28, 31, 91
F V (Facteur V= proaccéléline)	p 29
F VII (Facteur VII= proconvertine)	p 28, 86
F VIII (Facteur VIII= antihémophilique A)	p 29, 118
F VIII-vW (Facteur VIII- Von Willebrand)	p 101
F vW (Facteur Von Willebrand)	p 18, 101
F X (Facteur X= F Stuart)	p 28, 91, 115
F XI (Facteur XI= F Rosenthal)	p 28, 91
F XII (Facteur XII= F Hageman)	p 28, 91
F XIII (Facteur XIII= FSF)	p 28, 32, 47
FGF (Facteur de croissance fibroblastique)	p 53, 143, 144
Fibrine	p 32
Fibrinogène (= F I)	p 28, 83, 111
Fibrinogénémie	p 36
Fibrinopeptide A	p 110
Fibronectine	p 53
Flip-flop	p 21
FP 3 (Facteur plaquettaire 3)	p 21, 29
FP-4 (Facteur Plaquettaire 4)	p 52, 53, 144, 155

FSF (Facteur Stabilisateur de la Fibrine)	p 28
FT (Facteur tissulaire= F III= Thromboplastine)	p 27, 114
FT-VII a (Facteur tissulaire- F VII activé)	p 27, 40
Ganglioside	p 147
GMP-140	p 20
Gp Ib-IX	p 18, 147
Gp IIb/IIIa	p 16, 20, 113, 121, 147
Granules α	p 10
Granules denses (=Granules δ)	p 10
Héparane-sulfate	p 91
Héparine	p 91, 109, 153
HETE (Acide Hydroxyeicosatétraoïque)	p 24, 52, 53, 149
HMWK (High Molecular Weight Kininogen= F Fitzgerald)	p 28
IL-1 (Interleukine 1)	p 52
IL-6 (Interleukine 6)	p 123, 146
IL-8 (Interleukine 8)	p 143
Intégrine	p 16
Kallicréine	p 34, 42
Lactoferritine acide	p 63
Maladie de Glanzman	p 47
Maladie de Von Willebrand	p 101, 118
Maladie du pool vide	p 10
MIFA (Megacaryocyte Immunofluorescence Assay)	p 72
Mucine	p 89
NO (Monoxyde d'azote)	p 15, 119
PAF (Facteur Activateur de Plaquettes)	p 52
PAI (Plasminogen Activator Inhibitor)	p 41
PAI 1 (Inhibiteur des Activateurs du Plasminogène de type 1)	p 43, 45, 49, 119
PAI 2 (Inhibiteur des Activateurs du Plasminogène de type 2)	p 43
PC (Protéine C)	p 38
PCA (Protéine C Activée)	p 39
PDF (Produits de Dégradation de la Fibrine)	p 42, 83
PDGF (Platelet Derived Growth Factor)	p 49, 53, 143, 144, 149
Peptides RGD	p 152
PGD2 (Prostaglandine D2)	p 23, 110
PGE2 (Prostaglandine E2)	p 111, 144
PGG2 (Prostaglandine G2)	p 24
PGH2 (Prostaglandine H2)	p 24
PGI2 (Prostaglandine I2)	p 24, 111, 151
Phosphodiesterase	p 26
PIFA (Indirect Platelet Immunofluorescence Assay)	p 73
PK (Prékallicréine= F Fletcher)	p 28
Procoagulant tumoral	p 115, 147
PS (Protéine S)	p 38
P-sélectine	p 20, 153
scu-PA (pro-urokinase)	p 42, 44
Sérotonine	p 51
Syndrome de Jean-Bernard Soulier	p 18
Syndrome des plaquettes grises	p 10
TCA (Temps de coagulation activée)	p 36
Temps de rétraction du caillot	p 116
Temps de saignement	p 117

Test du FP 3	p 72
TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor)	p 40
TGF- β	p 49, 143, 144
Théophylline	p 26, 151
Thromboplastine (= FT)	p 27, 30, 86, 114, 147
Thrombopoïétine	p 94, 124
Thrombospondine (=TSP)	p 20, 53, 144
TP (Taux de Prothrombine)	p 34, 83, 133
t-PA (Activateur Tissulaire du Plasminogène)	p 41, 44
TQ (Temps de Quick)	p 34
TT (Temps de thrombine)	p 35
TTPA (Temps de Thromboplastine partiellement activée)	p 35, 83, 133
TXA2 (Thromboxane A2)	p 23, 51
u-PA (urokinase)	p 42
VEGF (Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire)	p 143, 146

INTRODUCTION

Le terme d'hémostase regroupe tous les processus mis en jeu pour colmater les brèches vasculaires et pour réinstaurer la circulation sanguine lorsqu'une thrombose l'obstrue à un endroit quelconque. Elle met en jeu un ensemble de phénomènes interdépendants, mécaniques, physicochimiques, biochimiques et enzymatiques. Elle nécessite la coopération entre la paroi vasculaire, des protéines plasmatiques et des cellules sanguines dont les plaquettes [99].

L'hémostase est divisée en plusieurs étapes, qui se recouvrent partiellement :

- l'hémostase primaire, qui dure de 3 à 5 minutes chez l'Homme, conduit à la formation d'un agrégat plaquettaire (le clou plaquettaire)
- l'hémostase secondaire (ou coagulation plasmatique), qui dure 5 à 10 minutes, permet la consolidation de cet agrégat par la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble (formation du caillot sanguin)
- la fibrinolyse permet en 48 à 72 heures la dégradation du caillot et le retour à une circulation normale.

Il existe une régulation très complexe de ces différentes étapes pour permettre la formation d'un caillot, dont la taille et la localisation doivent être adéquates pour colmater la brèche vasculaire, d'une durée suffisante pour permettre la réparation du vaisseau mais pas excessive pour éviter une perturbation prolongée de la circulation.

Cette régulation entraîne un équilibre entre coagulation et fibrinolyse. Une perturbation de cet équilibre sera à l'origine de :

- hémorragies par hypocoagulabilité et/ou hyperfibrinolyse
- thromboses par hypercoagulabilité et/ou hypofibrinolyse.

Les plaquettes interviennent bien sûr dans l'hémostase primaire mais également dans l'hémostase secondaire, la fibrinolyse, la rétraction du caillot, la réparation tissulaire, l'inflammation et la défense de l'organisme contre les micro-organismes.

Les plaquettes ou thrombocytes sont de petites cellules discoïdes **anucléées**, formées d'un cytoplasme granuleux entouré d'une membrane plasmatique riche en glycoprotéines (Cf. Fig. 1 page 11). Le volume des plaquettes canines est sensiblement similaire à celui des plaquettes de l'Homme : 7 à 8 fL (1,3 à 4,7 µm de diamètre et 0,5 à 1,5 µm d'épaisseur). Un anneau de **microtubules** est situé sous la membrane plasmatique et permet à la plaquette de passer d'une forme discoïde à une forme sphérique épineuse lors de l'activation plaquettaire. Les organites cytoplasmiques regroupent des **mitochondries**, des amas de **glycogène**, un **système enzymatique** pour le métabolisme aérobie et anaérobie ainsi que le métabolisme des prostaglandines et parfois des éléments de l'appareil de

Golgi et des ribosomes (mais les plaquettes dépourvues de matériel génétique, sont incapables de synthétiser de nouvelles protéines). Les organites principaux sont les granulations dont on distingue 4 types :

- **les granulations α** , de taille et de formes variables (au nombre de plusieurs centaines par plaquette), stockent de la β -thromboglobuline, du facteur plaquettaire 4 (FP-4), du fibrinogène, du facteur Von Willebrand, de la fibronectine, de la thrombospondine, du facteur V, du PDGF, de l'albumine, de la β -lysine, des immuno-globulines ainsi que des facteurs de perméabilité vasculaire et de croissance ; ces granulations α manquent dans le "syndrome des plaquettes grises".
- **les granulations denses (δ)** au nombre de 3 à 12 par plaquette, renferment du calcium, de l'ATP, de la sérotonine (absorbée à partir du plasma), de l'histamine et des catécholamines ; ces granulations manquent dans la "maladie du pool vide".
- **les lysosomes** contenant des enzymes lysosomiales
- **les peroxysomes** à activité peroxydasique (probablement catalase).

Les plaquettes possèdent deux systèmes membranaires. **Le système des canalicules ouverts** est un système de canaux formé par de longues invaginations de la membrane plasmique. Les plaquettes absorbent des substances du plasma et libèrent le contenu des granules par ce système. **Le système dense membranaire** séquestre du calcium et des enzymes et ne communique pas avec le milieu extracellulaire.

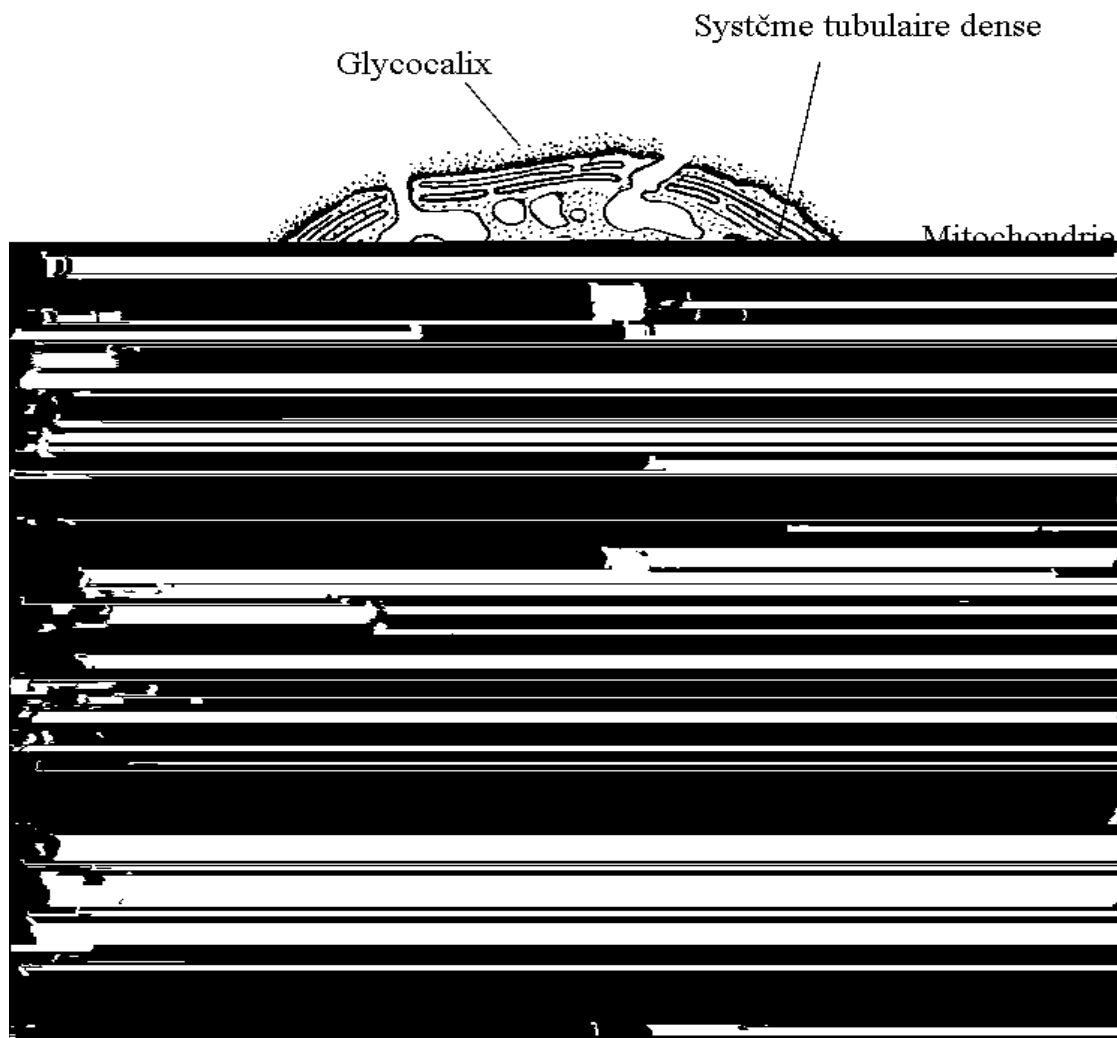


Fig. 1 : Schéma de l'ultrastructure plaquettaire (diamètre de 1,3 à 4,7 μm) [43].

Les thrombocytes sont produits par les **mégacaryocytes**, cellules hématopoïétiques les plus grandes de la moelle osseuse ; ces derniers mesurent de 20 à 160 μm de diamètre et représentent moins de 1% des cellules de la moelle. La lignée mégacaryoblastique comporte des mégacaryoblastes, des promégacaryocytes et des mégacaryocytes. Des divisions mitotiques du noyau sans division du cytoplasme (endomitose) conduisent à la formation d'un noyau polyploïde (4, 8, 16, 32 et parfois 64N) et à une augmentation de taille de la cellule. Le processus complet de différenciation et de maturation mégacaryocytaire (la **mégacaryocytopoïèse**) prend environ 3 jours chez le chien (6 jours chez l'Homme). Un mégacaryocyte mature produit ensuite de 2000 à 8000 plaquettes en 3 à 12 heures (la **thrombocytopoïèse**) par clivage de prolongements cytoplasmiques. Les jeunes plaquettes (6 à 15% de l'ensemble des plaquettes sanguines) sont plus grandes, plus denses, métaboliquement et fonctionnellement plus actives que les vieilles plaquettes. La mort des plaquettes survient chez le chien après un séjour vasculaire de **5 à 7 jours** (contre 7 à 10 jours chez l'Homme), à la fois par vieillissement progressif et par destruction au hasard dans la rate, le foie et peut-être les poumons, par le système des phagocytes mononucléés.

La numération plaquettaire physiologique du chien est **de 200 000 à 500 000 plaquettes/ μ L de sang** (Chat 300 000 à 800 000/ μ L, Homme 150 000 à 400 000/ μ L). On parlera d'une **thrombocytopénie** chez le chien pour une numération plaquettaire inférieure à 200 000 plaquettes/ μ L et d'une **thrombocytose** (ou thrombocythémie) au delà de 500 000 plaquettes/ μ L.

L'objectif de ce travail est d'étudier les désordres plaquettaires survenant lors de processus tumoral ainsi que leurs conséquences cliniques, thérapeutiques et pronostiques.

La première partie de ce mémoire est consacrée à des rappels sur la physiologie de la plaquette dont la connaissance est indispensable à la compréhension des désordres plaquettaires.

La deuxième partie décrit les désordres plaquettaires survenant lors de processus tumoral : on identifie ainsi des troubles quantitatifs (thrombocytopénie et thrombocytose) et des troubles qualitatifs (thrombocytopathie) dont les différentes causes sont présentées. Les implications cliniques et thérapeutiques y sont également décrites.

La troisième partie est une synthèse bibliographique des différentes études épidémiologiques consacrées à la survenue des désordres plaquettaires lors de néoplasie.

Enfin, dans un dernier chapitre sont évoqués l'implication des plaquettes dans le processus métastatique, ses conséquences dans la lutte contre le cancer ainsi que la valeur pronostique de certains paramètres plaquettaires.

CHAPITRE 1 : RAPPELS SUR LA PHYSIOLOGIE PLAQUETTAIRE

INTRODUCTION

Ce chapitre décrit l'intervention des plaquettes non seulement dans l'hémostase primaire bien entendu, mais aussi dans l'hémostase secondaire, la fibrinolyse et la rétraction du caillot.

Cependant, la fonction des plaquettes ne se cantonne pas uniquement à celle de l'hémostase ; les plaquettes ont également un rôle à jouer dans la réparation tissulaire, les processus inflammatoires et la défense de l'organisme contre les micro-organismes.

1. Plaquettes et hémostase primaire

L'hémostase primaire est le temps vasculo-plaquettaire ou pariétal, aboutissant à la formation d'un agrégat plaquettaire ou thrombus blanc, ou encore clou plaquettaire. Le thrombus blanc est fragile et devra être consolidé par le réseau de fibrine, protéine insoluble, au cours de l'hémostase secondaire.

L'hémostase primaire est suffisante pour arrêter l'hémorragie au niveau des petits vaisseaux ; elle est insuffisante mais indispensable pour freiner l'hémorragie de plus gros vaisseaux.

Les éléments intervenant dans l'hémostase primaire sont essentiellement la paroi vasculaire, les plaquettes sanguines, certaines protéines plasmatiques (facteur von Willebrand, fibrinogène) et des substances issues des tissus environnants. Elle est renforcée par des composés chimiques issus de l'hémostase secondaire.

1.1. Temps vasculaire : la vasoconstriction

Dans les secondes qui suivent une lésion vasculaire, un réflexe de vasoconstriction passif (lié à l'élasticité de la paroi) puis actif (par contraction sympathique des fibres musculaires lisses), retarde mécaniquement l'écoulement du sang. Cette phase active est accrue et prolongée par des **facteurs humoraux** (adrénaline, nor-adrénaline, sérotonine et thromboxane A2) **libérés par les plaquettes**.

Les cellules endothéliales voisines participent également à la vasoconstriction en élaborant *l'endothéline*, un vasoconstricteur très puissant entraînant une contraction intense de la cellule musculaire lisse, probablement associée à une *diminution de la production d'un facteur vasodilatateur endothélial, le monoxyde d'azote* (=Endothelium Derived Relaxing Factor EDRF qui est également un puissant anti-agrégant plaquettaire) [99].

Au total, il y a une réduction du calibre des vaisseaux dans la zone lésée qui peut atteindre jusqu'à 30% , en fonction de la richesse en fibres musculaires lisses, ce qui :

- diminue la fuite sanguine
- ralentit le débit sanguin, **favorisant les interactions entre les plaquettes et le tissu conjonctif sous-endothélial**.

Le temps vasculaire nécessite une structure anatomique et une solidité normale de la paroi vasculaire (ce qui n'est pas le cas dans certaines tumeurs comme l'hémangiosarcome) ainsi que des plaquettes.

Parallèlement à la vasoconstriction, la mise à nu de la matrice sous-endothéliale initie l'adhésion plaquettaire.

1.2. Temps plaquettaire

La séquence d'événements qui suit est intimement liée à l'ultrastructure des plaquettes. La membrane plaquettaire est le support d'un grand nombre de glycoprotéines, les **intégrines plaquettaires**, composées de sous-unités α et β , formant des récepteurs spécifiques se liant à divers ligands et servant de médiateurs aux interactions plaquette-matrice et plaquette-plaquette [14] (Cf. Tab I page 16).

Récepteurs	Ligands
Adhésion	
<i>Intégrines *</i>	
Gp Ia/IIa (VLA-2)	Collagène
Gp Ic/IIa (VLA-6)	Laminine
Gp Ic \diamond /IIa	Fibronectine
Av/IIIa	Vitronectine, fibrinogène, facteur Von Willebrand, thrombospondine
Gp IIb/IIIa	Fibrinogène, fibronectine, facteur Von Willebrand, vitronectine, thrombospondine
<i>Autres</i>	
Gp Ib-IX	Facteur Von Willebrand
Gp IV	Thrombospondine, collagène
Agrégation	
Gp IIb/IIIa	Fibrinogène, fibronectine, facteur Von Willebrand, vitronectine, thrombospondine

* Chaque intégrine est désignée par sa sous-unité α et β séparée par un slash
Gp : glycoprotéine ; VLA : very late lymphocyte-activation antigen

Tab. I: Récepteurs de surface plaquettaires impliqués dans l'adhésion et l'agrégation et leurs ligands [29]

L'adhésion plaquettaire est liée à un grand nombre de récepteurs de surface plaquettaires à affinité élevée pour les glycoprotéines adhésives du sous-endothélium. Par contre, l'agrégation plaquettaire fait exclusivement intervenir le récepteur Gp IIb/IIIa (Cf. Fig. 2 page 17). Contrairement aux autres intégrines, ce récepteur est uniquement présent à la surface des plaquettes et des mégacaryocytes.

☞ Le complexe Gp IIb/IIIa est spécifique de la lignée mégacaryocytoplaquettaire.

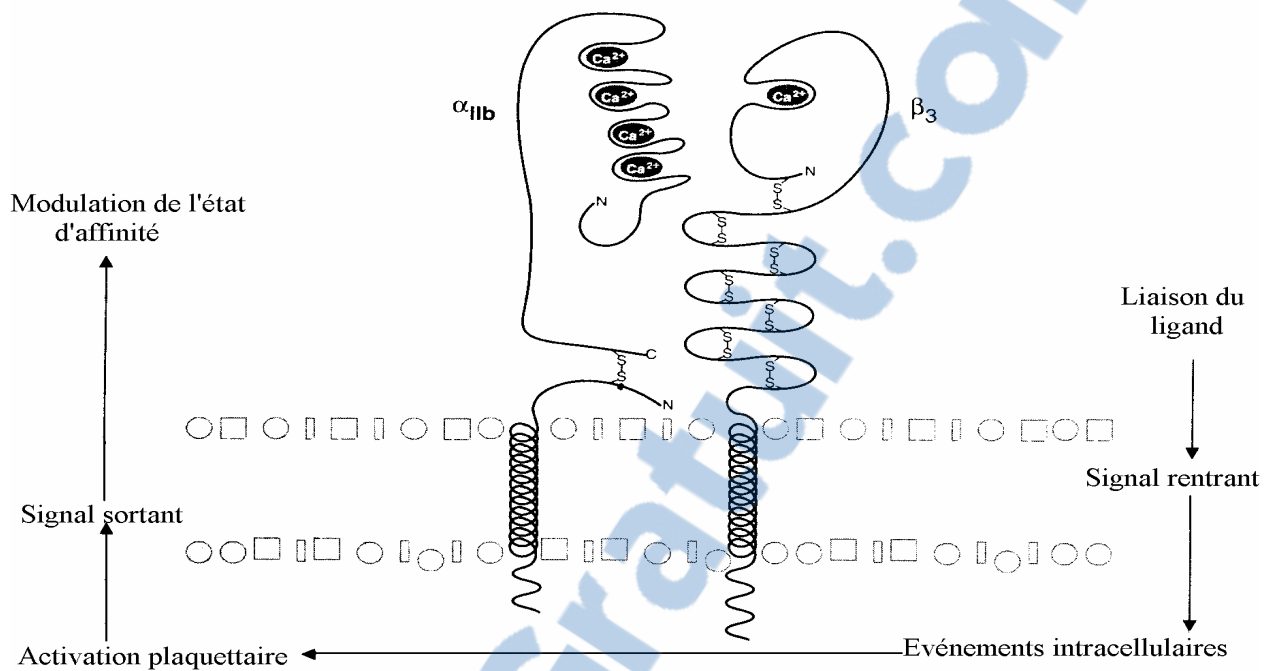


Fig. 2 : Schéma de l'intégrine plaquettaire Gp IIb/IIIa. Les chaînes α et β disposent chacune de sites distincts de liaison pour le fibrinogène. La portion intracytoplasmique β est associée au cytosquelette d'actine [43].

On compte environ 50 000 récepteurs Gp IIb/IIIa par plaquette [29].

1.2.1. L'adhésion plaquettaire

1.2.1.1. Mécanisme général de l'adhésion

Les récepteurs impliqués dans l'adhésion plaquettaire au sous-endothélium sont fonctionnels sur les plaquettes au repos (exception faite du récepteur Gp IIb/IIIa dont les sites pour ses ligands sont cachés au repos) [29]. Mais lorsque l'endothélium est intact, les ligands (collagène, facteur Von Willebrand, fibronectine) sont cachés dans le sous-endothélium. Ainsi, l'adhésion plaquettaire est limitée au site de la lésion vasculaire.

L'adhésion s'effectue au sous-endothélium exposé, en faisant intervenir essentiellement la Gp Ib-IX de la membrane plaquettaire, le facteur Von Willebrand (surtout les multimères de haut poids moléculaire) et certaines structures du sous-endothélium dont surtout les fibres de collagène de type III et IV et les microfibrilles conjonctives.

Il y a d'abord fixation du facteur Von Willebrand à certains récepteurs des fibres de collagène ; il en résulte une modification de la configuration spatiale du facteur Von Willebrand. Sur ce facteur Willebrand modifié, vient s'amarrer la plaquette par l'intermédiaire de la Gp Ib/IX (Cf. Fig. 3 page 19).

▶ Le complexe Gp Ib-IX

Ce complexe constitué par la Gp Ib et la Gp IX. La Gp Ib est elle-même constituée de 2 sous-unités $Ib\alpha$ et $Ib\beta$. La Gp $Ib\alpha$ possède dans sa partie externe des récepteurs à la *thrombine* et un site de fixation au *facteur Von Willebrand*.

La Gp Ib manque dans un syndrome hémorragique sévère, *le syndrome de Jean Bernard Soulier* (ou dystrophie thrombocytaire hémorragipare) et est anormale dans la pseudo- maladie de Willebrand.

▶ Le facteur Von Willebrand

Le facteur Von Willebrand est *synthétisé par l'endothélium vasculaire* et est sécrété à partir du pôle luminal dans le sang. Il est également synthétisé *par les mégacaryocytes* et est donc présent dans les plaquettes (dans les granules α). Dans le sang, cette glycoprotéine (PM=225 000) s'associe au facteur VIIIc (facteur anti-hémophile A) par des ponts calcium pour former un complexe qui protège le facteur VIIIc d'une inactivation trop rapide (un déficit en facteur von Willebrand s'accompagne d'une baisse du taux de VIIIc).

Le facteur Von Willebrand sert de pont entre la plaquette et le sous-endothélium.

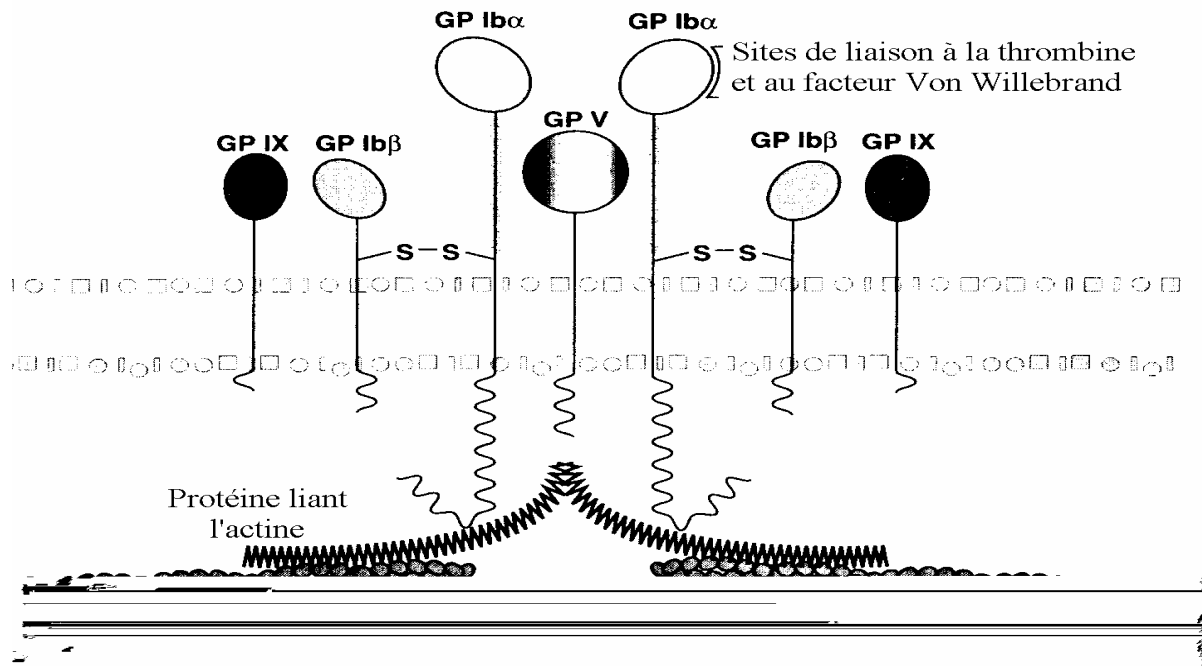


Fig. 3 : Le complexe Gp Ib-IX-V : adhésion de la plaquette à l'endothélium par l'intermédiaire du facteur Von Willebrand [43].

L'adhésion est suivie d'une activation des plaquettes ; cette activation présente au moins deux aspects fondamentaux :

- **un changement de forme et de la structure interne des plaquettes**
- **une activation métabolique.**

1.2.1.2 L'activation plaquettaire

Initialement discoïdes, les plaquettes vont devenir sphériques et plus volumineuses par pénétration de 30% d'eau [99]. Puis l'anneau de microtubules périphériques se rompt. Elles s'étalent alors et émettent des *pseudopodes*.

Il y a également fusion des granules plaquettaire (α et denses) avec le système canaliculaire ouvert, ce qui entraîne :

- **une dégranulation** par exocytose avec libération dans le plasma du contenu des granules (ADP, calcium, amines vasoactives...) : c'est la "release" plaquettaire
- l'expression à la surface de la plaquette activée d'un certain nombre de protéines qui étaient présentes en face interne de la membrane des granules. Il y a en particulier une très importante augmentation de l'expression sur la membrane plasmique plaquettaire, *des molécules de Gp IIb/IIIa* et apparition de protéines absentes de la surface de la plaquette au repos, en particulier la *GMP 140* (= *P sélectine*, issue des granules α , qui permet *l'adhésion des plaquettes*

activées aux neutrophiles et monocytes ainsi qu'à certaines cellules tumorales Cf. Chap 4-1.3.3 page 152).

Les complexes Gp IIb/IIIa, initialement répartis sur l'ensemble de la membrane, se regroupent pour former des colonies.

Les molécules de Gp IIb/IIIa subissent une modification de leur configuration spatiale et peuvent alors fixer des molécules de fibrinogène et du calcium ; il se forme alors des ponts fibrinogène entre les Gp IIb/IIIa de plaquettes activées adjacentes assurant ainsi **l'agrégation plaquettaire**.

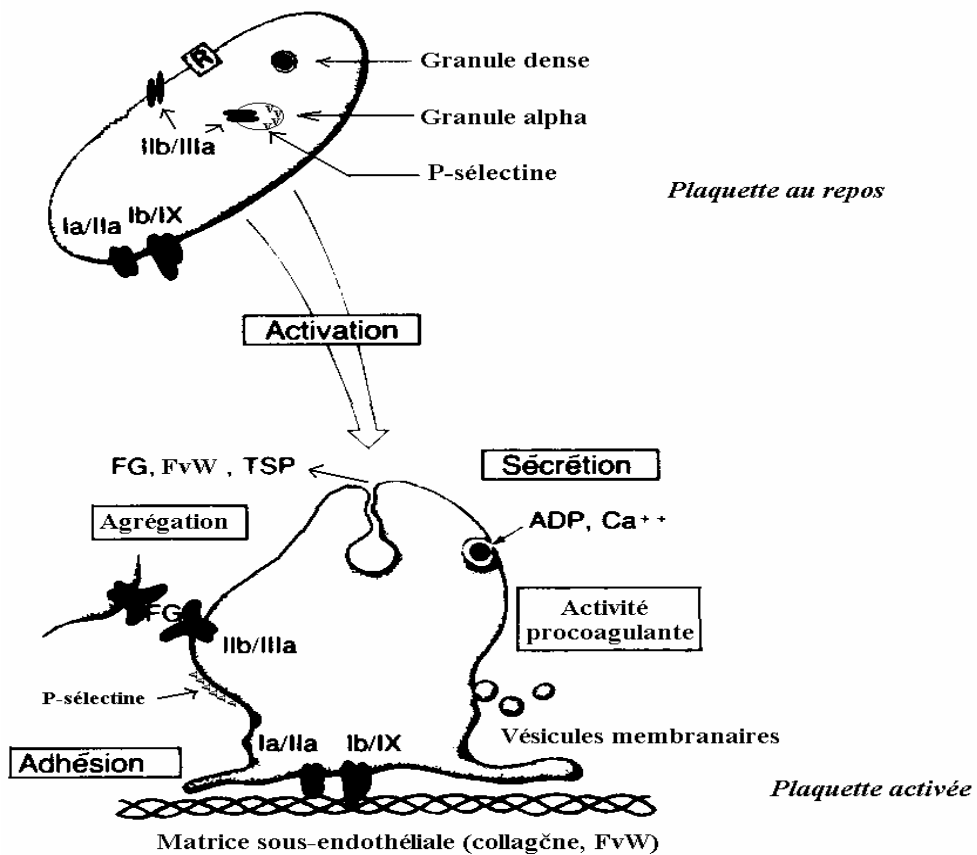


Fig. 4 : Modifications morphologiques de la plaquette lors de l'activation [53]
Protéines adhésives : FG= fibrinogène, FvW=facteur Von Willebrand, TSP=thrombospondine.

Un certain nombre de substances peuvent activer les plaquettes et entraîner la dégranulation

:

- le collagène
- l'adrénaline dont la présence est consécutive à un stress
- l'ADP à faible dose, en particulier provenant des globules rouges lysés au moment de la lésion vasculaire
- la sérotonine libérée par le tissu endommagé
- *la thrombine qui est produite très rapidement, dès la mise en jeu de l'hémostase secondaire.*

Ces substances (et bien d'autres) favorisent l'excrétion du contenu des granules α et denses, en particulier l'excrétion d'ADP qui va activer d'autres plaquettes, assurant ainsi leur *recrutement*. Les plaquettes ainsi recrutées subissent les mêmes modifications morphologiques, la même explosion métabolique et viennent se fixer aux premières plaquettes par les **ponts fibrinogène** pour entraîner une agrégation irréversible.

Le "flip-flop" est une autre modification ultrastructurale essentielle : c'est l'inversion de polarité des phospholipides au niveau de la membrane des plaquettes activées ; le feuillet interne de la membrane passe en position externe, c'est-à-dire au contact du plasma.

C'est sur les phospholipides hydrophiles ainsi extériorisés, en particulier ceux qui sont chargés négativement (phosphatidylsérine surtout) et qui constituent **le facteur plaquettaire 3 (FP 3)**, que *vont se fixer les facteurs vitamine K dépendants de la coagulation* par l'intermédiaire de ponts calcium.

Ce flip-flop est donc un préalable essentiel au bon déroulement de l'hémostase secondaire.

▶ **Le facteur plaquettaire 3 (FP 3) : participation des plaquettes à l'hémostase secondaire**

Le FP 3 est un ensemble de phospholipides chargés négativement, essentiellement phosphatidylsérine, sur lequel viennent se fixer directement les facteurs V et VIII de la coagulation et indirectement, par l'intermédiaire de ponts calcium, les facteurs vitamine K dépendants. **Ce FP 3 est donc un support physique de la coagulation** où se concentrent dans un petit espace un grand nombre de facteurs de coagulation, ce qui permet des interactions nombreuses et rapides entre ces molécules. Remarquons qu'il est possible de doser le FP 3 (Cf. Chap. 2-1.2.1.2. page 69).

1.2.2. L'agrégation plaquettaire : aspects métaboliques

1.2.2.1. Métabolisme de l'acide arachidonique

L'agrégat de plaquettes se forme par apparition successive de couches de plaquettes, réunies les unes aux autres par des ponts de fibrinogène ; il se constitue ainsi une sorte de filet qui retient les globules rouges. La surface de chaque plaquette présente le FP 3 sur lequel se fixent et se concentrent les facteurs de la coagulation.

Au contraire de l'adhésion, le processus d'agrégation requière une activité métabolique plaquettaire [53].

On peut donc résumer la succession des événements comme suit : **adhésion plaquettaire** puis **activation plaquettaire** (release et activation métabolique) et **agrégation plaquettaire** (Cf. Fig.5 page 22).

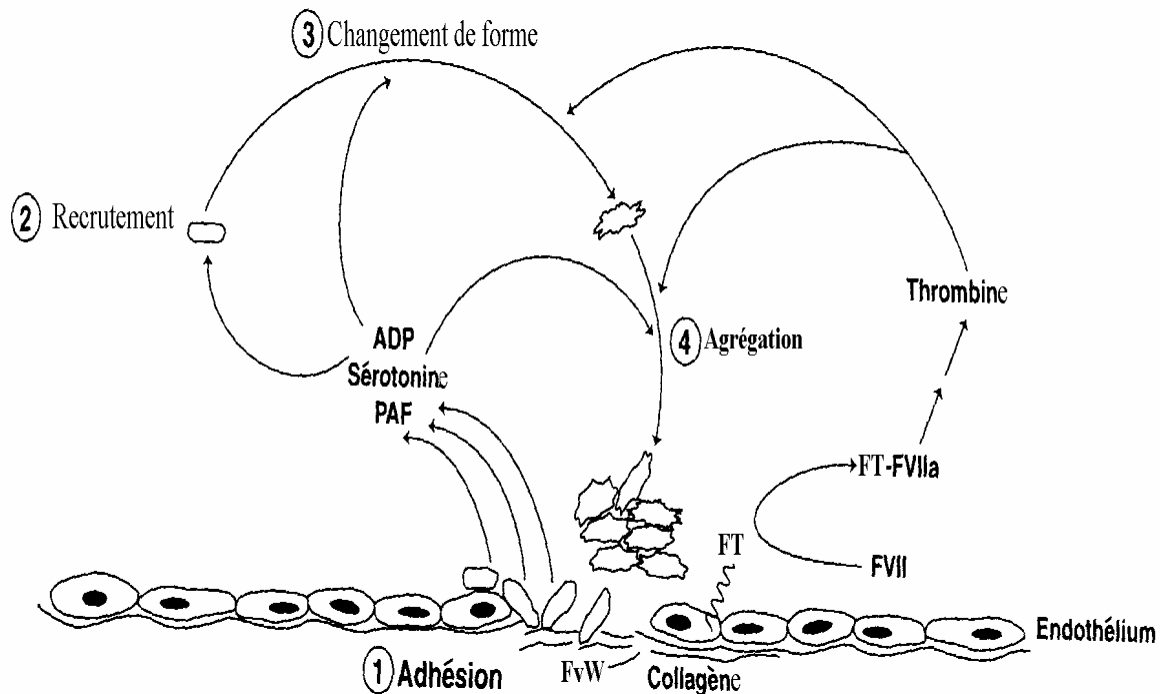


Fig. 5 : Représentation schématique des étapes initiales de l'hémostase [43]
 FvW= facteur Von Willebrand, FT= facteur tissulaire.

La voie métabolique de synthèse de l'acide arachidonique est fondamentale ; elle est nécessaire à l'agrégation plaquettaire.

► Production d'acide arachidonique

Deux voies anaboliques sont possibles :

- les agents inducteurs de l'agrégation seraient capables, après fixation sur un site récepteur membranaire, d'activer une *phospholipase A2 calcium dépendante*, qui catalyse la dégradation des phospholipides membranaires plaquettaires (phosphatidylcholine ou phosphatidyléthanolamine) en acide arachidonique

- l'acide arachidonique peut aussi être produit à partir du monophosphatidyl inositol par action d'une *phospholipase C* et d'une glycéro lipase.

▶ Synthèse de prostaglandines : catabolisme de l'acide arachidonique

La plus grosse partie de l'acide arachidonique subit une peroxydation sous l'influence d'une *cyclooxygénase de type 1* (cox-1) dans les tubules denses plaquettaires. Il y a formation de deux endo-peroxydes cycliques instables ou prostaglandines PGG₂ et PGH₂ qui peuvent évoluer dans la plaquette selon trois voies métaboliques différentes (Cf. Fig. 6 page 24) :

(i) production de malondaldéhyde inactif (MDA)

(ii) production de thromboxane A₂ (TXA₂)

Le thromboxane A₂ est le plus puissant agent agrégant. Il favorise la sécrétion des granules denses et donc la libération d'ADP et il entraîne l'activation des plaquettes via la *phospholipase C*. En effet, le thromboxane A₂ active la phospholipase C, qui convertit le diphosphate de phosphatidyl inositol membranaire en diacylglycérol et en triphosphate inositol. Ces 2 composés sont les médiateurs d'importants mécanismes de l'activation plaquettaire : l'activation de la *protéine kinase C* (qui phosphoryle des protéines) et la libération des stocks de calcium.

C'est aussi **un puissant agent vasoconstricteur.** Le TXA₂ inhibe l'adényl cyclase, entraînant changement de forme, sécrétion et agrégation plaquettaires (Cf. Fig. 7 page 25).

(iii) **formation de PGD₂, puissant inhibiteur de l'agrégation** (stimule l'adényl cyclase, inhibe la phospholipase A₂).

Une autre voie métabolique est possible dans les cellules endothéliales :

- les endoperoxydes cycliques de l'endothélium vasculaire *mais également ceux issus du catabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire* peuvent être transformés par les microsomes de l'endothélium vasculaire en **PGI₂** grâce à une prostaglandine synthétase absente des plaquettes, mais présente dans les cellules endothéliales. **Le PGI₂ est le plus puissant inhibiteur de l'agrégation plaquettaire et un puissant vasodilatateur.**

PHOSPHOLIPIDES MEMBRANAIRES

Ca²⁺ phospholipase A ou C

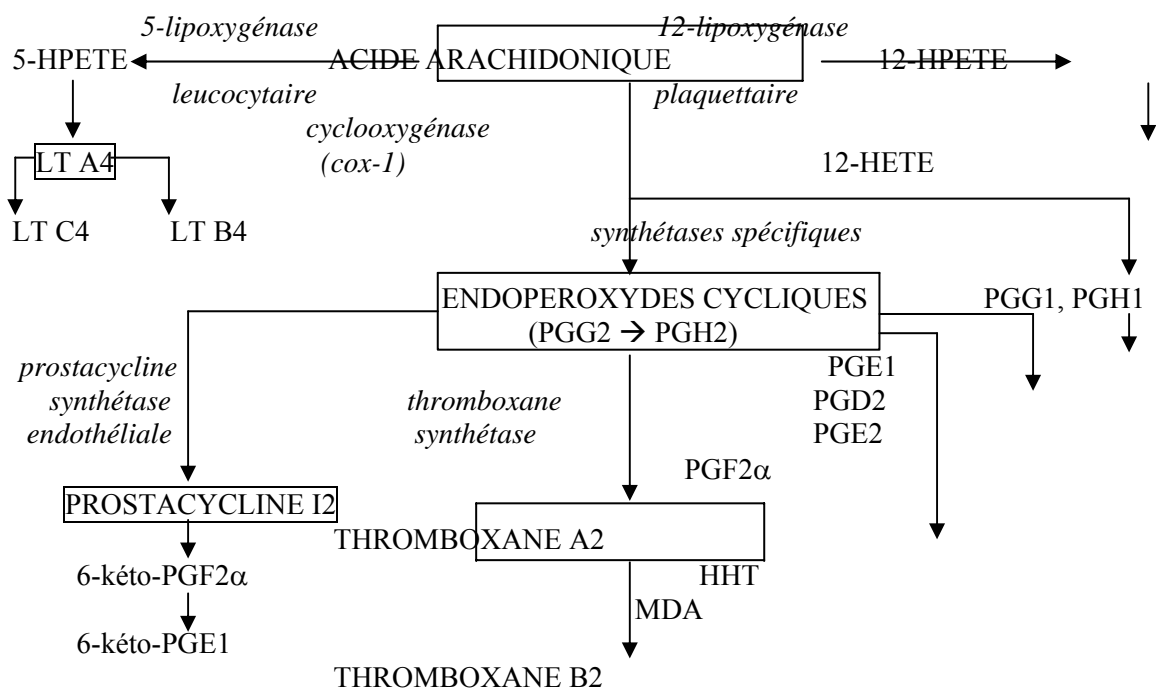


Fig. 6 : Métabolisme de l'acide arachidonique conduisant à la formation de prostaglandines (PG), thromboxanes et leucotriènes (LT) [76].

1.2.2.2. Rôle de la concentration en AMPc intraplaquettaire

Toutes les substances précédentes, agrégantes ou antiagrégantes, exercent leur action par le biais de l'AMPc intraplaquettaire, responsable lui-même de la disponibilité du calcium intracellulaire Ca²⁺ au niveau de l'actomyosine (Cf. Fig. 7 page 25).

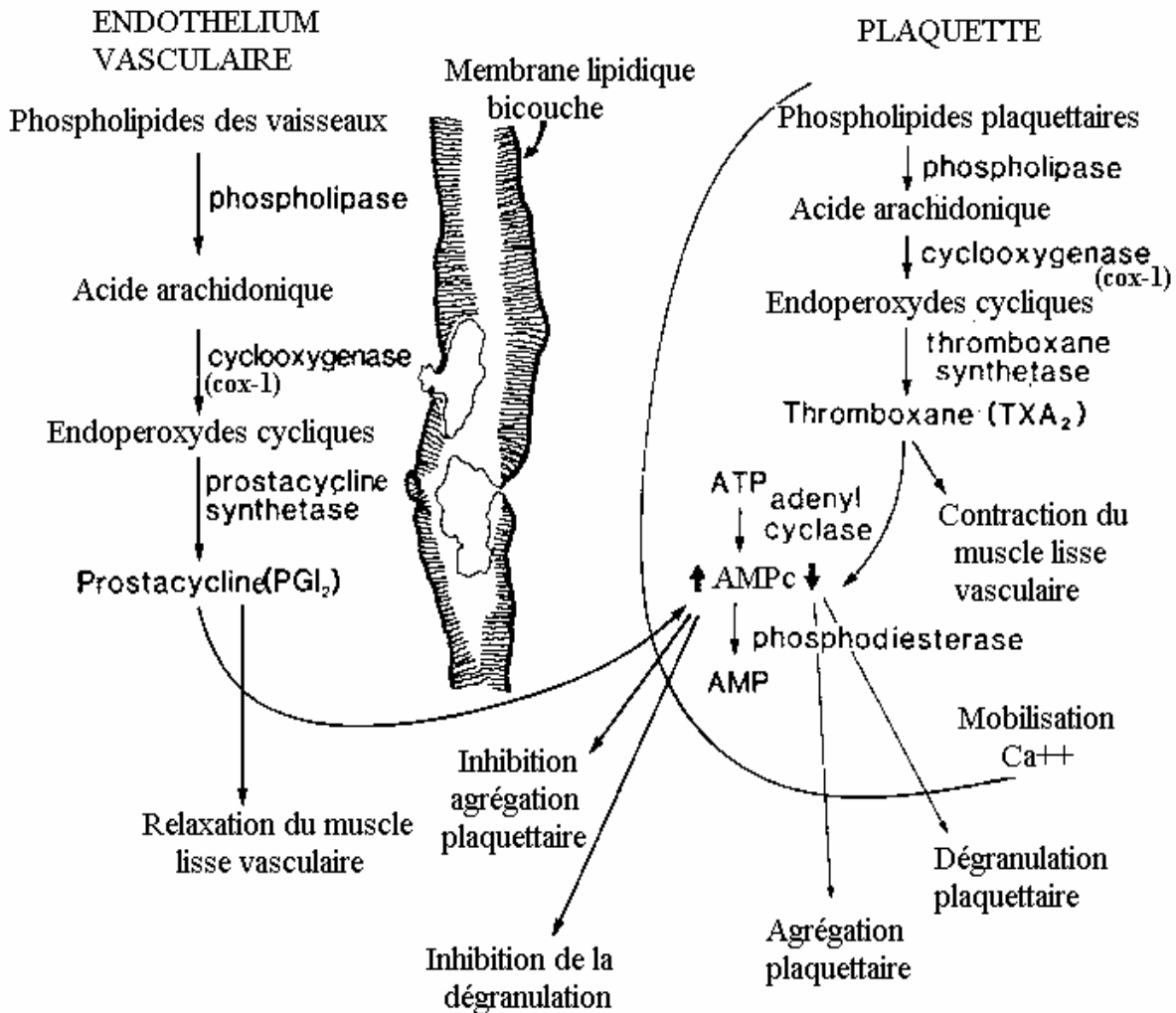


Fig. 7 : Représentation schématique du rôle des prostaglandines dans la régulation du taux d'AMPc et de l'activité plaquettaire. L'interdépendance des rôles de la PGI₂ dérivée de l'endothélium vasculaire et du thromboxane dérivé de la membrane plaquettaire, est soulignée [32].

► AMPc intraplaquettaire et mobilisation du calcium

L'AMPc active les pompes à calcium plaquettaires. Il entraîne un stockage du Ca²⁺ dans le système tubulaire dense et/ou une élimination du calcium hors de la plaquette. Le Ca²⁺ étant alors indisponible, il y a dissociation des molécules d'actine et de myosine. Au contraire une diminution de l'AMPc entraîne une augmentation du Ca²⁺ dans le cytoplasme au contact de ces mêmes protéines, permettant leur contraction et entraînant alors le changement de forme de la plaquette, la réaction de dégranulation et l'agrégation plaquettaire.

Donc **tout facteur qui augmente l'AMPc diminue l'agrégation et inversement.**

La concentration de l'AMPc dépend de 2 enzymes :

- l'adényl cyclase (formatrice), dans la membrane plasmatique plaquettaire
- la phosphodiesterase (destructrice), intraplaquettaire.

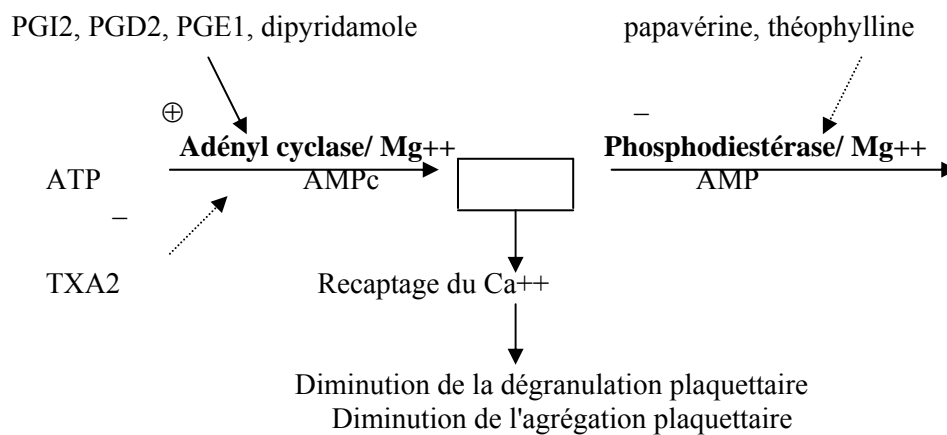


Fig. 8 : Régulation de la synthèse de l'AMPc par les prostaglandines.

Les différentes prostaglandines issues du métabolisme de l'acide arachidonique régulent l'activité de l'adényl cyclase (Cf. Fig. 8 page 26) et donc contrôlent le taux d'AMPc intraplaquettaire.

2- Plaquettes et hémostase secondaire

Le thrombus plaquettaire (blanc) formé au cours de l'hémostase primaire ne permet qu'une hémostase imparfaite. Il doit être consolidé par de la fibrine au cours de l'hémostase secondaire.

On distingue trois étapes dans l'hémostase secondaire :

- la génération de prothrombinase
- la thrombinoformation
- la fibrinoformation.

Des mécanismes inhibiteurs, très efficaces, existent en équilibre avec les mécanismes procoagulants et assurent une fonction régulatrice.

2.1. Les facteurs de l'hémostase secondaire

Les éléments intervenant dans l'hémostase secondaire sont essentiellement :

- le thrombus blanc avec le FP 3 des plaquettes activées
- les facteurs plasmatiques de la coagulation
- la thromboplastine tissulaire.

▶ La thromboplastine tissulaire

C'est le facteur III (terme peu usité) ou le **facteur tissulaire (FT)**. La thromboplastine tissulaire est présente dans la membrane des cellules endothéliales et dans de nombreux tissus. Elle peut aussi être synthétisée par les monocytes activés et les macrophages activés par une endotoxine et des complexes antigènes-anticorps (conférant à ces cellules un rôle certain dans l'activation pathologique de la coagulation dans certaines maladies comme les états septiques). Elle est constituée d'une partie phospholipidique associée à une partie protéique.

Après activation des cellules de l'endothélium vasculaire, il se produit une synthèse importante de cette molécule, qui apparaît alors à la surface de l'endothélium : la partie protéique est transmembranaire et la partie phospholipidique permet la liaison au **facteur VII de la coagulation**. La formation d'un complexe FT-VII résulte en un changement de conformation du facteur VII, permettant son activation (facteur VIIa). Le complexe FT-VIIa forme alors avec le facteur plaquettaire FP 3 et le calcium, le *complexe enzymatique ténase extrinsèque*, ayant pour substrat les facteurs IX et X.

► Les facteurs plasmatiques procoagulants

La plupart sont synthétisés par le foie ; certains nécessitent la présence de vitamine K pour leur synthèse. Sur le plan fonctionnel, on peut les répartir en 3 groupes :

(i) *un substrat* : le **fibrinogène** (taux plasmatique 1,5 à 4 g/L), **facteur I** de la coagulation, synthétisé dans le foie, indépendamment de la vitamine K (le premier isolé il y a près de 100 ans). *La thrombine IIa*, son enzyme, le transforme en *monomères de fibrine*. L'association de nombreux monomères de fibrine conduit à la constitution d'un réseau de fibrine enserrant le clou plaquettaire pour former le caillot.

(ii) *des zymogènes*, c'est-à-dire des facteurs à activité enzymatique.

Les **facteurs II** (prothrombine), **VII** (proconvertine), **IX** (antihémophilique B), **X** (Stuart) ainsi que les **protéines C et S** (anticoagulantes) sont vitamine K dépendants.

Les facteurs II, VII, IX, X (procoagulants) se trouvent dans une fraction plasmatique à usage thérapeutique, appelée le *PPSB* (le facteur VII s'y trouvant en petite quantité).

Les facteurs XI (F. Rosenthal), **XII** (F. Hageman), **PK** (Pré-kallicréine= F. Fletcher), **HMWK** (Kininogène de haut poids moléculaire= F. Fitzgerald) sont appelés *facteurs de contact*. Ces molécules sont activées au contact de molécules variées (collagène du sous-endothélium mis à nu, bactéries, complexes antigènes-anticorps, verre, kaolin). Seul le déficit sévère en facteur XI peut entraîner des hémorragies, de sorte que ces facteurs ne semblent pas jouer de rôle (sauf le XI) dans la génération de thrombine *in vivo*. Par contre, ils interviennent dans l'activation de la fibrinolyse et dans les phénomènes inflammatoires.

Le facteur XIII est le facteur stabilisant de la fibrine (FSF). Il est activé par le facteur IIa, en présence de calcium, en une transglutaminase capable de créer une liaison covalente entre deux monomères de fibrine (liaison glutamine-lysine), ce qui rend la fibrine très stable.

Ces facteurs de la coagulation existent dans le plasma sous forme de pro-enzymes inactives. Ils possèdent un site actif formé de résidus d'acides aminés dans une configuration très spécifique, en particulier un résidu sérine (d'où le terme de "**sérine protéase**" souvent utilisé) et un résidu histidine.

L'activation consiste en une hydrolyse partielle de la molécule, ce qui entraîne une modification de sa structure spatiale lui conférant une capacité d'enzyme protéolytique (par

rapprochement des résidus sérine et histidine). Le facteur ainsi activé va hydrolyser un autre facteur dans une véritable cascade enzymatique.

L'hydrolyse entraîne la *libération d'un peptide que l'on peut doser*. Il existe un taux basal de ces divers peptides chez le sujet normal, ce qui traduit une *activation constante de la coagulation*. Un taux très élevé est en faveur d'une hyperactivation de la coagulation.

(iii) *des cofacteurs* des réactions enzymatiques : les facteurs **V** (proaccélélerine) et **VIII** (antihémophilique A).

Les facteurs V et VIII interviennent en potentialisant les réactions enzymatiques au sein de 2 complexes enzymatiques :

- *la ténase intrinsèque* qui comporte les facteurs VIII et IXa, du calcium et le **FP 3**
- *la prothrombinase* avec les facteurs V et Xa, Ca²⁺ et le **FP 3**.

Le tableau suivant présente les 3 complexes majeurs de l'hémostase secondaire [14] :

	Complexe prothrombinase	Complexe ténase intrinsèque	Complexe ténase extrinsèque
Enzyme	Xa	IXa	VIIa
Ion cofacteur	calcium	calcium	calcium
Surface	FP 3	FP 3	FP 3
Protéine cofacteur	V	VIII	FT
Substrat	II	X	IX et X

FP 3= surface procoagulante des plaquettes, FT= facteur tissulaire

Tab. II : Les trois complexes enzymatiques majeurs de l'hémostase secondaire.

☞ Soulignons ici le rôle majeur des **plaquettes en tant que support physique de l'hémostase secondaire par le biais du FP 3**.

Les demi-vies des facteurs de la coagulation [99] sont variables :

	Demi -vie
Fibrinogène (facteur I)	3-4 jours
Facteur II (prothrombine, PPSB)	4-5 jours
Facteur VII (proconvertine, PPSB)	4 heures
Facteur IX (antihémophilique B, PPSB)	24 heures



Facteur X (PPSB)	36-48 heures
Facteurs de contact XI,XII, PK, HMWK	2-3 jours
Facteur VIII (antihémophilique A)	8 heures
Facteur V	36-48 heures
Facteur XIII (FSF)	7 jours

Tab. III : Demi-vies des principaux facteurs de la coagulation
 PK=pré-kallicréine, HMWK=kininogène de haut poids moléculaire, PPSB=fraction plasmatique regroupant les facteurs II,VII,IX et X, FSF=facteur stabilisant de la fibrine.

2.2. Déroulement de l'hémostase secondaire

2.2.1. La génération de thrombine

2.2.1.1. La lésion pariétale

La lésion pariétale entraîne la synthèse de **thromboplastine**, alors présente à la surface de la cellule endothéliale. A ce niveau le facteur VII se lie à sa partie phospholipidique et forme le complexe *FT-VII* ; il en résulte un changement de conformation du facteur VII dont l'activité est multipliée plusieurs milliers de fois, tout en restant encore très faible.

2.2.1.2. Le complexe prothrombinase

Le complexe FT-VII hydrolyse le facteur X en *Xa*. Les molécules de *Xa* produites hydrolysent le facteur VII présent dans le complexe FT-VII. Le facteur VII est alors transformé en *VIIa* très actif.

La génération de facteur *Xa* devient donc plus importante. Celui-ci forme avec le facteur plaquettaire FP 3 et le calcium, **le complexe prothrombinase** capable d'hydrolyser la prothrombine (facteur II) en thrombine IIa.

2.2.1.3. Les boucles de rétro-activation

Les quelques molécules de thrombine qui viennent d'être produites vont avoir des destins divers :

- certaines sont emportées dans le courant circulatoire et donc *perdues* pour la coagulation car les molécules IIa sont libres, c'est-à-dire non fixées au FP3
- d'autres sont *neutralisées par l'antithrombine III* fixée aux molécules d'héparane sulfate des cellules endothéliales
- d'autres **activent les plaquettes** entraînant une agrégation irréversible
- d'autres *activent les facteurs V et VIII* en Va et VIIIa qui jouent alors leur rôle de cofacteur de façon considérablement accrue, entraînant un accroissement explosif de la génération de thrombine : il s'agit de ce que l'on appelle **la double boucle de rétro-activation de la génération de thrombine**
- d'autres *activent les facteurs XI et XIII*
- d'autres forment un complexe avec une thrombomoduline à la surface des cellules endothéliales. Ce *complexe active le système de la protéine C* (Cf. Chap. 1-2.3.2. page 38).

2.2.1.4. L'activation du facteur IX

Les molécules de VIIa et/ou les complexes FT-VIIa ont précédemment activé de façon très rapide le facteur X en Xa. Plus lentement, le VIIa va hydrolyser et activer le facteur IX en IXa ; il s'agit là de la principale voie d'activation du facteur IX appelée **boucle Josso**. Le facteur IXa avec le facteur plaquettaire FP 3, du Ca²⁺ et le facteur VIIIa comme cofacteur constituent le *complexe de la tenase* qui hydrolyse le X en Xa. Ce dernier participe alors à la formation du *complexe prothrombinase* (Cf. Tab. II page 29).

L'activation du facteur IX est lente à se mettre en place, mais cette voie est prépondérante quantitativement dans la génération de thrombine. L'activation du facteur X par le complexe FT-VIIa est au contraire très rapide ; cette voie constitue le "starter" de la coagulation permettant la génération des premières molécules de thrombine.

Il existe une autre voie d'activation du facteur IX, de moindre importance. Des molécules de thrombine IIa activent le facteur XI ; le facteur XIa active le facteur IX (des déficits très sévères en facteur XI, homozygotes sont hémorragipares - ce sont des hémorragies provoquées, jamais spontanées).

2.2.2. La transformation du fibrinogène en fibrine

La thrombine IIa hydrolyse les 2 chaînes α puis les 2 chaînes β du fibrinogène au niveau des extrémités N terminales. Il y a libération de 2 fibrinopeptides A (FPA) depuis α et de 2 fibrinopeptides B (FPB) depuis β , de poids moléculaires respectifs 2000 et 2400 Daltons. Ceci entraîne un changement des charges électriques de la molécule et par suite un changement conformationnel : on a alors un **monomère de fibrine**.

Les monomères de fibrine s'associent les uns aux autres par des liaisons hydrogène faibles, longitudinales puis transversales. On obtient alors un caillot de fibrine peu stable.

Le caillot est stabilisé grâce au **facteur XIIIa** préalablement activé par la thrombine IIa. Le facteur XIIIa établit 2 liaisons covalentes entre les 2 chaînes α de 2 monomères de fibrine adjacents (polymérisation longitudinale) puis 4 liaisons covalentes entre 2 chaînes β de 2 monomères adjacents (polymérisation transversale). Le déficit sévère en facteur XIII est hémorragipare.

Remarque : la notion de voies intrinsèque et extrinsèque de la coagulation

Les notions de voie intrinsèque et de voie extrinsèque de la coagulation sont désormais obsolètes lorsqu'on parle de la génération de thrombine *in vivo*.

Le facteur XII de la coagulation et les facteurs prékallicréine et kininogène n'interviennent pas *in vivo* mais dans les tests de coagulation *in vitro*. Leur déficit n'est d'ailleurs pas hémorragipare.

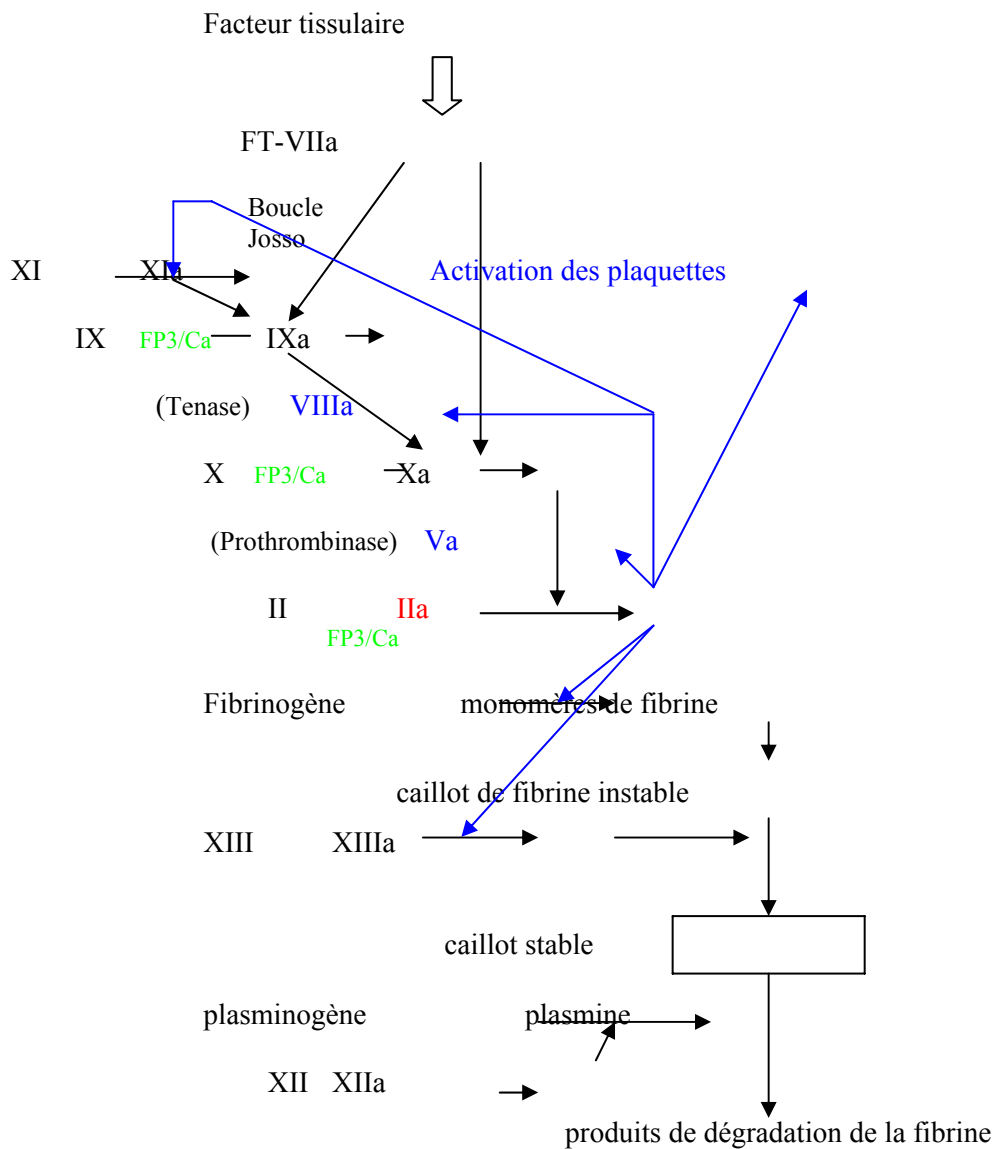


Fig. 9 : Schéma de l'hémostase secondaire et de la fibrinolyse *in vivo* (sans les régulateurs de la coagulation).

2.2.3. Exploration de l'hémostase secondaire [99]

L'exploration de l'hémostase secondaire est réalisée par la détermination du temps de thromboplastine partiellement activé (TTPA), du temps de Quick ou taux de prothromine (TQ ou TP) et du taux de fibrinogène. Il existe un préalable indispensable à la réalisation de ces tests qui est celui d'un prélèvement sanguin de bonne qualité : aiguille de ponction la plus grosse possible et analyse si possible dans la demi-heure, au plus tard dans les 2 heures, sur sang total ou plasma (recueilli après centrifugation du sang de 1500 à 2000g pendant 10 minutes et élimination du surnageant pauvre en plaquettes) dans un tube citraté (ratio citrate/sang de 1 :9) ; le citrate chélate le calcium et donc empêche la coagulation.

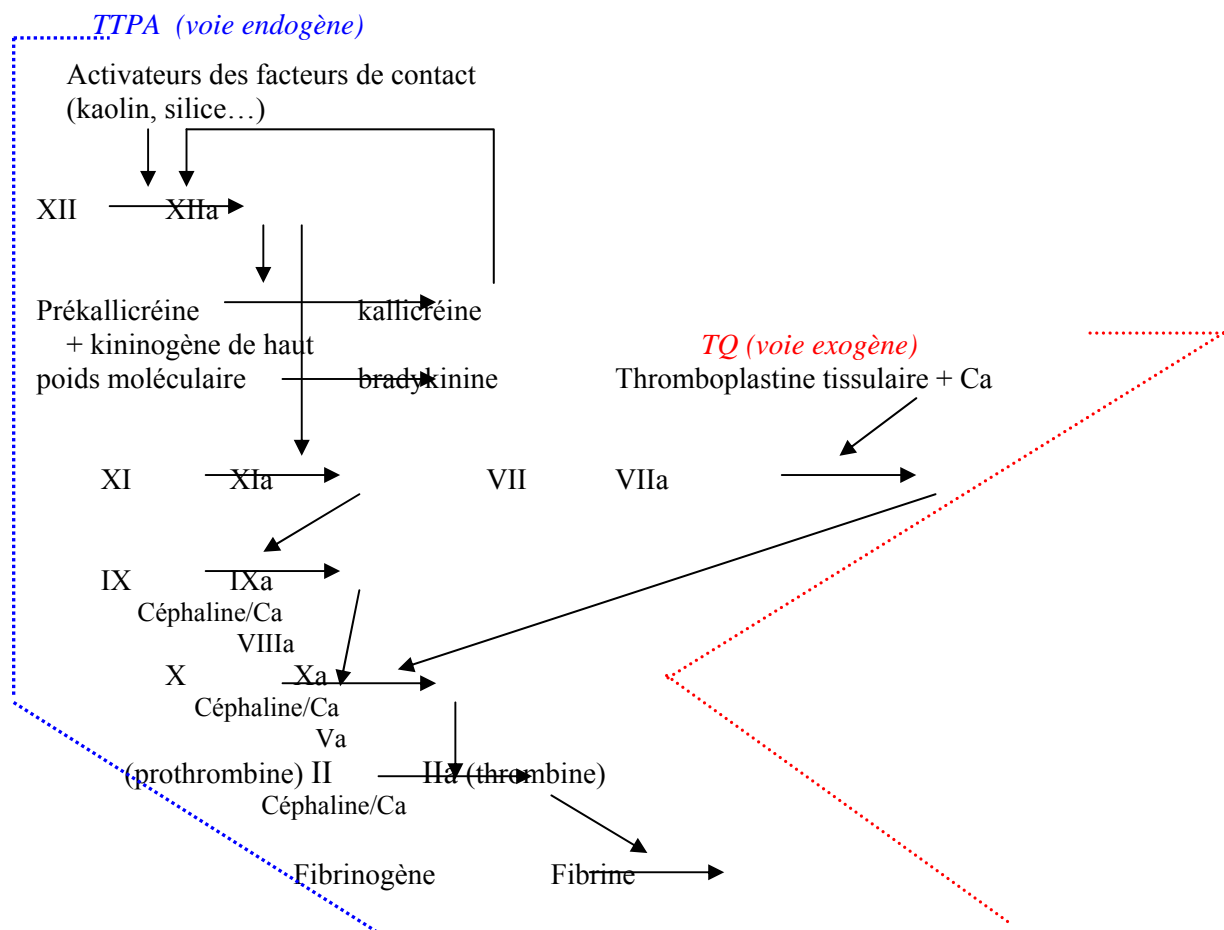


Fig. 10 : Schéma de l'hémostase secondaire *in vitro*
Facteurs explorés par le TTPA uniquement : facteurs de contact, XII, XI, VIII et IX
Facteurs explorés par le TQ uniquement : VII
Facteurs explorés par les 2 tests : X, V, II et I.

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

Ce test explore la voie dite extrinsèque de la coagulation.

Par définition, c'est le temps de coagulation d'un plasma citraté après adjonction de thromboplastine et de calcium. Il est exprimé en secondes (temps de Quick, 10 à 13 secondes chez l'Homme, suivant la thromboplastine ; **chez le chien de 12 à 17 secondes à l'ENVA ou en comparant à un témoin, le TQ est allongé si temps du patient/ temps du témoin >1,3**) ou en pourcentage par rapport à une droite d'étalonnage (taux de prothrombine, normale de 70 à 100%) (et en ratio normalisé international INR pour les patients humains sous antivitamines K).

Le TP est essentiellement retrouvé allongé en cas de déficit isolé ou associé en facteur VII, X, V, II ou I.

Le TP est insensible à l'héparine utilisée en thérapeutique car sont ajoutés à la thromboplastine, des ions calcium et du polybrène ou du sulfate de protamine qui neutralisent

l'héparine (ainsi, chez un malade sous héparine-antivitamines K, l'allongement du TP est dû uniquement aux antivitamines K qui diminuent les facteurs II, VII, X et IX).

L'interprétation du TP se fait en fonction du TCA qui explore la voie intrinsèque de la coagulation.

2.2.3.2. Le temps de thromboplastine partiellement activée (TTPA)

Le TTPA, anciennement nommé temps de céphaline-kaolin (TCK), est le temps de coagulation d'un plasma citraté auquel on ajoute un activateur des facteurs de contact, de la céphaline, un substitut du facteur plaquettaire FP 3, puis après une incubation à 37°C du CaCl₂ (M/40). Le TTPA normal varie suivant les activateurs, les céphalines commerciales et les appareils utilisés, de 30 à 40 s en général chez l'Homme, **de 70 à 100 s chez le chien à l'ENVA (ou allongé si temps du patient/temps du témoin >1,3)**. La limite de la zone de normalité, à déterminer par chaque laboratoire, est située 6 à 10 secondes au dessus du témoin. L'interprétation du TTPA se fait en fonction du TP.

2.2.3.3. Le temps de thrombine (TT)

Si les temps de prothrombine et de thromboplastine partiellement activée sont anormaux, la mesure du temps de thrombine est complémentaire et permet de détecter des défauts dans l'interaction thrombine-fibrinogène et dans la polymérisation de la fibrine.

Le TT est le temps de coagulation d'un plasma citraté auquel on ajoute de la thrombine (TT= 26 à 40 s chez l'Homme, **14 à 19 s chez le chien**).

Un allongement du temps de thrombine peut signifier la présence :

- d'une anti-thrombine thérapeutique : héparine
- d'une anti-thrombine pathologique : présence en excès de produits de dégradation de la fibrine (si PDF > 10 µg/mL) ou d'une immunoglobine monoclonale.

Les temps TP, TTPA et TT sont facilement disponibles en médecine vétérinaire où de nombreux kits commerciaux existent.

Remarque : Le temps de coagulation activée (TCA)

C'est un test global où l'on ajoute un activateur de contact à un échantillon de sang dans un tube simple. Test facilement réalisable, son temps peut être augmenté lors d'atteinte du système intrinsèque ainsi que lors de thrombocytopénie, d'héparine ou d'anticoagulants. Il est donc peu discriminant (TCA de 55 à 92 s chez le chien, à l'ENVA).

2.2.3.4. La fibrinogénémie

Des anomalies du taux plasmatique de fibrinogène (facteur I, taux plasmatique normal de 1,5 à 4 g/L) peuvent être responsables d'un allongement du TP, TTPA et TT. De nombreuses méthodes de mesure existent : méthode de Clauss, cinétique, détection photométrique, gravimétrie, méthode immunologique et de précipitation par la chaleur. En médecine vétérinaire, la méthode de Clauss est la plus fréquemment utilisée et représente une variante du temps de thrombine. Le principe de base est le suivant : à un taux constant de thrombine, le taux de formation de la fibrine est proportionnelle à la concentration en fibrinogène.

On reconnaît :

- **des hypofibrinogénémies (<1g/L)** congénitales (très rares) ou acquises lors d'*insuffisance hépatique* ou de coagulation intravasculaire disséminée décompensée (*CIVD*)
- **des hyperfibrinogénémies (>6g/L)** dans les états inflammatoires ou précocément lors d'*activation de la cascade de coagulation*.
- **des dysfibrinogénémies**, parfois congénitales, mais le plus souvent acquises (cirrhose, hépatome, adénocarcinome hépatique ou iatrogène lors de traitement au melphalan).

2.3. Régulation de l'hémostase secondaire

Trois éléments importants agissent ensemble pour éviter une accumulation locale excessive de thrombine, cause d'une hypercoagulation :

- la régulation de la génération de thrombine et neutralisation de la thrombine en excès
- le flux sanguin qui entraîne une dilution des facteurs activés
- la phagocytose des facteurs activés, par le système réticulo-histiocytaire.

Nous ne développerons que le premier point, non sans oublier que les deux autres points sont tout autant importants.

Un certain nombre de molécules jouant un rôle majeur dans la régulation de la génération de thrombine, a été identifié ; ce sont essentiellement l'antithrombine III et les molécules du système protéine C, en particulier les protéines C et S.

2.3.1. L'antithrombine III (AT III)

L'antithrombine III est une glycoprotéine (PM= 63 000 Da), synthétisée dans le foie (sous influence des stéroïdes sexuels : diminution du taux après administration d'oestrogènes, augmentation après administration d'androgènes) et d'une demi-vie de 2,8 jours.

In vitro, elle neutralise toutes les sérine-protéases de la coagulation (sauf le VIIa). Cette neutralisation est très accélérée en présence d'héparine. *In vivo*, elle neutralise surtout la thrombine, en particulier après activation de l'AT III par les molécules d'héparane-sulfate à la surface des cellules endothéliales.

Valeurs normales	
Activité	80 à 120% par rapport à un pool de plasmas normaux
Dosage immunologique	22 à 36 mg/100 mL

Tab. IV : Valeurs normales de l'antithrombine III (chez l'Homme)

Variations physiologiques: âge: nouveau-né=50% du taux de l'adulte, diminution avec l'âge
sexe: taux plus faible chez la femme

Variations iatrogènes: diminution: contraceptifs oraux, héparinothérapie curative, L-asparginase
augmentation: AVK?, anabolisants de synthèse.

Des déficits congénitaux en antithrombine III existent et sont à l'origine de thromboses spontanées ou provoquées (contraceptifs oraux, grossesse, chirurgie...).

Des déficits acquis en AT III surviennent lors de :

- CIVD, sepsis (consommation très accrue, supérieure à la synthèse)
- Insuffisance hépatique (défaut de synthèse)
- Syndrome néphrotique (fuite urinaire)
- Période post-opératoire immédiate (consommation accrue)
- Maladies inflammatoires de l'intestin (consommation accrue)
- Néphropathies gravidiques (consommation accrue).

2.3.2. Le système protéine C

Le système protéine C est de connaissance récente mais son rôle dans la régulation de la génération de thrombine est considérable. Le système protéine C est ainsi nommé car il fait intervenir plusieurs molécules : protéine C, protéine S, thrombomoduline, un facteur du complément (la C4b BP), des inhibiteurs, des récepteurs membranaires et les facteurs Va et VIIIa de la coagulation.

La protéine C (PC) est une sérine protéase, synthétisée par le foie, vitamine K dépendante, de 1/2 vie très courte (4h). La protéine S (PS) est vitamine K dépendante, synthétisée par le foie pour une grande partie et les cellules endothéliales, de 1/2 vie plus longue (36h).

Valeurs plasmatiques normales	
Protéine C	65 à 145% par rapport à un pool de plasmas normaux 3 à 5 µg/mL
Protéine S	70 à 140% ; 20 à 40 mg/mL

Tab. V: Valeurs plasmatiques normales des protéines C et S
Variations physiologiques: prot C: 35% à la naissance
prot S: 30% à la naissance, plus élevé chez les hommes
Variations iatrogènes: antivitamines K, L-asparginase, contraceptifs oraux.

La protéine S existe sous 2 formes : une forme libre (1/3 de la protéine S totale), seule forme efficace et une forme liée à la C4b BP.

► Schéma du système protéine C

La protéine C, comme les autres sérine-protéases, n'est fonctionnelle qu'après activation. Celle-ci s'effectue à la surface des cellules de l'endothélium vasculaire. La protéine C se fixe sur un récepteur membranaire et s'active. La protéine C activée (PCA) forme ensuite un complexe stœchiométrique avec la protéine S libre ; cette dernière présentant une forte affinité pour les phospholipides anioniques, **le complexe PCA-protéine S se fixe sur le facteur plaquettaire FP 3 du thrombus blanc au niveau duquel a lieu la génération de thrombine. La PCA dégrade les facteurs Va et VIIIa, entraînant un ralentissement de la génération de thrombine.**

☞ L'inactivation des facteurs V et VIII catalysée par la protéine PCA est ainsi accélérée en présence de plaquettes activées [51], ces dernières possédant donc paradoxalement une activité anticoagulante!

Il existe une régulation complexe de l'activité PCA.

La PCA a par ailleurs un pouvoir profibrinolytique par inhibition du PAI 1, principal inhibiteur de la fibrinolyse (Cf. Chap. 1-3.1.2. page 43).

► Variations pathologiques

Des déficits congénitaux du système protéine C ont été décrits.

Les déficits acquis surviennent lors de :

- thrombose (PC, PS)
- insuffisance hépatique, *même modérée ou transitoire*
- trouble du métabolisme de la vitamine K
- CIVD, sepsis (PC)
- période post-opératoire immédiate (PC, PS)
- inflammation aiguë (baisse de la PS libre associée à une augmentation de la C4b BP)
- gestation avec pré-éclampsie (PC)
- syndrome néphrotique (PS).

2.3.3. Autres molécules impliquées dans la régulation de la génération de thrombine

► Le cofacteur II de l'héparine

Cette protéine neutralise le facteur IIa uniquement après activation par un polysaccharide sulfaté présent à la surface des cellules de l'endothélium vasculaire. Son importance physiologique serait faible.

► Le TFPI

Le Tissue Factor Pathway Inhibitor neutralise le complexe FT-VIIa. Le TFPI est un membre de la famille des inhibiteurs des serine-protéases. Une fois formés, les complexes FT-VIIa ne peuvent être inhibés qu'après avoir initié la coagulation. Le TFPI reconnaît et neutralise le facteur Xa produit, puis le complexe TFPI-Xa se fixe sur le complexe TF-VIIa, bloquant son activité.

Le rôle effectif de cette molécule semble attesté par le fait que son taux *in vivo* est diminué dans les cas d'hyperactivation de la coagulation (CIVD).

Conclusion : plaquettes et hémostase secondaire

☞ **Par le biais du facteur plaquettaire 3, les plaquettes sont le support physique de l'hémostase secondaire ; elles interviennent également dans la régulation de la génération de thrombine, en accélérant l'inactivation des facteurs Va et VIIIa par le système protéine C.**

3. Plaquettes et fibrinolyse [99, 156]

La fibrinolyse est initiée presque simultanément à la coagulation et empêche l'extension du caillot en détruisant le polymère de fibrine, capable même de reperméabiliser ce caillot.

La fibrinolyse repose sur la transformation du **plasminogène**, zymogène inactif d'origine hépatique incorporé au caillot (PM=92 000, taux plasmatique= 200 mg/mL), en **plasmine**, enzyme à action protéolytique puissante qui s'exerce sur le caillot de fibrine.

Dans les états pathologiques d'hyperfibrinolyse, il y a production massive de plasmine, dont l'action protéolytique s'étend alors au *fibrinogène* et à *certaines facteurs de la coagulation* (Va, VIIa...).

Il existe un équilibre délicat entre le système de la coagulation et celui de la fibrinolyse.

3.1. Régulation du système fibrinolytique

3.1.1. Les activateurs du plasminogène

Deux types principaux d'activateurs physiologiques ont été identifiés ; ils agissent en hydrolysant la liaison peptidique (arginine 560-valine 561) pour donner une molécule de plasmine.

▶ L'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA)

Principal activateur de la fibrinolyse, **le t-PA est synthétisé par les mégacaryocytes, les plaquettes mais surtout par les cellules endothéliales** sur le site du caillot.

La sécrétion de t-PA est sous l'effet de stimuli variés, en particulier : production de thrombine, stase veineuse en amont d'un thrombus, anoxie, acidose, exercice physique, stress et cytokines produites par les monocytes activés, TNF (Tumor Necrosis Factor).

L'activité basale du t-PA dépend surtout du taux de son principal inhibiteur, le **PAI (Plasminogen Activator Inhibitor)**. Une partie du t-PA est neutralisé par le PAI, une autre partie se fixe sur un récepteur spécifique de la fibrine. Le plasminogène se fixe sur un récepteur voisin de la fibrine. La présence de fibrine potentialise considérablement l'activation du plasminogène par le t-PA.

La plasmine générée après action du t-PA reste fixée à la fibrine et par son action protéolytique commence la digestion de la fibrine. Il y a alors production de **produits de dégradation de la fibrine (PDF)** de poids moléculaires de plus en plus petits au fur et à mesure que

se déroule la fibrinolyse. Ces PDF sont emportés dans le courant circulatoire ($N < 10 \mu\text{g/mL}$) et épurés par les cellules de Küpffer hépatiques.

☞ **Les PDF sont des anticoagulants puissants, interférant avec la polymérisation de la fibrine sous l'action de la thrombine et inhibant le fonctionnement des plaquettes.**

Remarque :

Certains tissus comme les poumons, l'utérus, les ovaires, la prostate et les tissus cancéreux produisent plus de t-PA que les autres. Une intervention chirurgicale au niveau de ces organes, **en particulier en vue de l'exérèse d'une tumeur maligne, est susceptible d'entraîner une libération importante de t-PA et donc une hyperfibrinolyse** avec des saignements conséquents au cours de l'intervention [99].

▶ **L'urokinase (u-PA)**

L'urokinase est produite par les cellules rénales, circule dans le sang sous forme de pro-enzyme (pro-urokinase ou scu-PA) et est excrétée dans l'urine. La présence de fibrine favorise la transformation de scu-PA en u-PA par la kallicréine. A l'inverse de la scu-PA, l'u-PA a peu de spécificité pour la fibrine et active à la fois le plasminogène lié à la fibrine et le plasminogène circulant (Cf. Fig. 11 page 43).

▶ **Les facteurs de contact**

Les facteurs de contact ne sont pas impliqués dans la coagulation *in vivo* mais ont un rôle modéré dans l'activation du plasminogène (kallicréine).

- **hyperfibrinolyse** par une libération massive de t-PA insuffisamment neutralisé par le PAI ; les caillots se dissolvent avant la réparation tissulaire avec syndrome hémorragique ; elle peut être secondaire à une *coagulation intravasculaire disséminée* (Cf. Chap. 2- 1.3.1 page 83) ou primitive, essentiellement au cours *d'interventions chirurgicales d'organes très vascularisés*, riches en t-PA (utérus, prostate, poumons).

- **hypofibrinolyse** essentiellement liée à une production accrue de PAI (40% des thromboses "spontanées").

3.2. Plaquettes et fibrinolyse [29]

Différentes études *in vitro* ont montré que les plaquettes peuvent soit augmenter la production de plasmine, soit inhiber la formation de plasmine, soit neutraliser la plasmine active.

3.2.1. Activité profibrinolytique des plaquettes

Les activateurs du plasminogène, t-PA et scu-PA, sont présents dans les plaquettes ou à leur surface, mais le statut fonctionnel de ces activateurs n'est pas clair. D'autre part, les plaquettes peuvent lier le plasminogène directement à leur surface et cette liaison est augmentée d'un facteur cinq si la thrombine transforme le fibrinogène associé aux plaquettes en fibrine de façon concomitante. La glycoprotéine Gp IIb/IIIa serait impliquée dans ces mécanismes de liaison.

☞ En fait, on constate que **la fibrinolyse du caillot ainsi que l'activation du plasminogène par le t-PA sont augmentées en présence de plaquettes.**

3.2.2. Activité antifibrinolytique des plaquettes

Les plaquettes contiennent dans leurs granules des inhibiteurs du système fibrinolytique : le PAI 1 et l' α 2-antiplasmine. La libération de ces substances suite à l'activation plaquettaire peut ainsi limiter la thrombolyse.

Les plaquettes peuvent également remplacer le facteur XIIIa dans la fibrine stable, augmentant ainsi sa résistance à la lyse.

☞ Il semblerait que les plaquettes soient en grande partie responsable des échecs de certains traitements thrombolytiques des thromboses artérielles. Des modèles expérimentaux chez le chien montrent que les thrombi artériels (se développant à haut débit et principalement représentés par l'infarctus du myocarde et les accidents vasculaires cérébraux chez l'Homme et les thromboembolies aortiques chez le chat) initialement composés de plaquettes et de fibrine se transforment en thrombi riches en plaquettes et relativement pauvres en fibrine après thrombolyse (thrombi blancs) [29,54]. A l'inverse, les thrombi veineux (thrombi rouges) sont principalement constitués de fibrine et d'hématies ; ils se développent dans des conditions hémodynamiques de bas débit, généralement suite à une lésion vasculaire déclenchant l'activation de l'hémostase.

Les **thrombi artériels riches en plaquettes, sont particulièrement résistants aux thrombolytiques.** Les thrombi résiduels et le milieu plasmatique local contiennent des agents activateurs des plaquettes (ADP, adrénaline) non neutralisés par les thrombolytiques (streptokinase, urokinase) ni par les anticoagulants tels que l'héparine. De plus, l'activation du système fibrinolytique par les thrombolytiques a des effets paradoxaux sur la fonction plaquettaire. Activation et inhibition plaquettaires existent mais à des moments différents. L'activation plaquettaire domine immédiatement après administration du thrombolytique alors que l'inhibition plaquettaire n'apparaît qu'après [29].

Tout ceci contribue probablement aux réocclusions (20 à 30 % des cas), qui surviennent parfois rapidement, laissant à penser un échec de la thrombolyse.

La contribution relative des effets profibrinolytiques et antifibrinolytiques des plaquettes *in vivo* est difficile à déduire des résultats obtenus *in vitro*. Il est probable que cela diffère en fonction du siège de la lésion et de sa nature.

4. Plaquettes et rétraction du caillot [99]

Précédemment, nous avons vu que les plaquettes sont reliées les unes aux autres par des ponts de fibrine-calcium fixés aux glycoprotéines Gp IIb/IIIa de deux plaquettes adjacentes. *Ces glycoprotéines fixent à l'intérieur de la plaquette activée des molécules d'actomyosine* (qui représentent 15% des protéines de la plaquette). *Ces molécules d'actomyosine ou throbosthénine se contractent* (en présence d'ATP, de Ca^{2+} et de Mg^{2+}), entraînant alors une rétraction du caillot de fibrine. Il en résulte un rapprochement des bords de la brèche vasculaire et un moindre encombrement du lit vasculaire, ce qui favorise un retour à une circulation normale.

L'importance de la rétraction dépend du :

- taux de fibrinogène
- taux de facteur stabilisant de la fibrine (facteur XIII ou FSF, Cf. Chap. 1-2.1. page 27)
- **nombre et valeur fonctionnelle des plaquettes** (par exemple, absence de rétraction du caillot dans la maladie de Glanzmann caractérisée par un déficit en Gp IIb/IIIa)
- nombre de globules rouges emprisonnés dans le caillot.

5- Plaquettes et réparation tissulaire

Les plaquettes sécrètent différents facteurs intervenant dans la réparation vasculaire et plus largement dans la réparation tissulaire.

5.1. Facteurs de croissance plaquettaires

Le PDGF (Platelet Derived Growth Factor) est sécrété par les plaquettes activées. Il s'agit d'un facteur de croissance pour les cellules musculaires lisses et les fibroblastes. Il est à la fois chimiotactique et mitogène.

Le PDGF attire les cellules musculaires lisses qui migrent de la media vers l'intima. Il favorise la multiplication des fibroblastes et des cellules musculaires lisses qui synthétisent plus de macromolécules du tissu conjonctif. Ceci entraîne une cicatrisation qui commence très précocement au contact du thrombus.

A l'extrême, le PDGF en permettant la pénétration des fibroblastes dans le thrombus lui-même, entraîne une diminution d'efficacité de la fibrinolyse physiologique et des traitements thrombolytiques. Pour cette raison, un traitement thrombolytique est d'autant plus efficace qu'il est entrepris plus *précocement* après une thrombose [99].

Les plaquettes sont également capables de sécréter **des peptides EGF-like**, c'est-à-dire des **facteurs de croissance épidermiques**. L'EGF stimule *in vitro* la migration et la prolifération des cellules endothéliales vasculaires et des fibroblastes [51].

5.2. Le TGF- β (Transforming Growth Factor β)

Sécrété également par la plaquette (et d'autres types cellulaires), le **TGF- β** , contrairement au PDGF et à l'EGF-like, agit de façon prédominante comme **un inhibiteur de la prolifération cellulaire**. Le TGF- β est libéré sous une forme latente et est activé par l'enzyme fibrinolytique, la plasmine [51].

Le TGF- β activé peut moduler sa propre activation en stimulant la synthèse de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (**PAI 1**, Cf. Chap. 1-3.1 page 41). Ainsi, le TGF- β joue le rôle de médiateur du système fibrinolytique et contribue à expliquer en partie le fait que les thrombi

riches en plaquettes (artériels) sont relativement résistants à la fibrinolyse (Cf. Chap. 1-3.2.2. page 45) [29].

6- Plaquettes et inflammation

Bien que les plaquettes, la fibrine et les globules rouges soient les composants primaires du caillot sanguin, les cellules de l'inflammation (neutrophiles et macrophages) y sont également présentes invariablement. Il y a peu, les interactions entre ces cellules et les plaquettes étaient encore mal connues.

La participation des plaquettes au processus inflammatoire a été initialement suggérée en injectant expérimentalement des homogénats de plaquettes à des rats, qui présentèrent alors un œdème marqué, une infiltration de neutrophiles et une forte réponse fibroblastique. Des homogénats de cellules de cerveau, cœur et rein injectés en tant que contrôles, ne produisent qu'une réaction inflammatoire modérée [19].

D'autres recherches ont précisé la nature des interactions plaquettaires [51] et attribuent à ces cellules une véritable fonction inflammatoire.

6.1. Plaquettes et paroi vasculaire

Les plaquettes activées par des substances procoagulantes ou phlobogènes, produisent des substances vasoactives, comme le **thromboxane A2** et la **sérotonine** des granules denses, deux composés qui sont de puissants *vasoconstricteurs*.

Les plaquettes libèrent aussi des **protéases** qui clivent le cinquième composant du complément en sa forme active C5a comme elles **stimulent aussi la sécrétion d'histamine par les mastocytes**. Ces composés contribuent à la *perméabilité vasculaire du site inflammatoire*.

De leur côté, les cellules endothéliales stimulées libèrent un puissant inducteur de l'agrégation plaquettaire appelé **le facteur activateur de plaquettes (PAF)** pour platelet activating factor). Le PAF est le nom d'un groupe de composés phosphoglycérides acétylés, qui sont également **capables de stimuler les leucocytes, les cellules musculaires lisses** et de nombreux autres tissus. *De nombreuses cellules sécrètent ce PAF, incluant les neutrophiles, les cellules endothéliales et les plaquettes elles-mêmes.*

► Le PAF, un médiateur de la fonction plaquettaire

Le PAF est un puissant lipide autacoïde produit par une variété de cellules, incluant les plaquettes, monocytes, basophiles, neutrophiles, macrophages et cellules endothéliales, en réponse à une variété de stimuli [51]. **Non seulement le PAF entraîne l'activation et l'agrégation des plaquettes et neutrophiles à des concentrations nanomolaires** (les plaquettes répondent à des concentrations micromolaires d'ADP), **mais encore le PAF est un important médiateur des interactions directes entre plaquettes, polynucléaires et cellules endothéliales.**

Ce lien entre les médiateurs de l'inflammation et l'activité procoagulante est aussi démontré par le fait que les plaquettes humaines stimulées par une variété d'agonistes, peuvent exprimer une **activité de surface interleukine IL-1**. Les cellules endothéliales peuvent alors, à leur tour, synthétiser le PAF en réponse à la stimulation IL-1.

☞ **Le PAF apparaît comme étant un des plus puissants agonistes plaquettaires.**

Des récepteurs de haute affinité pour le PAF ont été identifiés à la surface plaquettaire. L'interaction du PAF avec ces récepteurs entraîne un changement de forme de la plaquette, le métabolisme du phosphoinositol, la phosphorylation de protéines et la sécrétion des contenus granulaires incluant la sérotonine et le FP 4.

6.2. Plaquettes, monocytes et macrophages

Différents produits des granules α sont des **facteurs chimiotactiques pour les monocytes** et incluent le facteur plaquettaire 4 (**FP 4**), le facteur de croissance dérivé des plaquettes (**PDGF** pour platelet-derived growth factor), l'acide hydroxyeicosatétraoïque (**HETE**) issu de la voie de la lipoxygénase du métabolisme de l'acide arachidonique (Cf. Chap. 1-1.2.2.1. page 22) et vraisemblablement le **PAF** [19].

► Le FP 4

Le FP 4 connaît une homologie structurale avec d'autres cytokines comme le tissue-activating peptide, l'interleukine 8 et des peptides activateurs des neutrophiles [51]. **Le FP 4 est un facteur chimiotactique pour les monocytes et les neutrophiles.**

► Le PDGF

Le PDGF (Platelet Derived Growth Factor) est sécrété par les plaquettes activées.

Il est **chimiotactique pour les monocytes** ; c'est également un **facteur de croissance** (à la fois chimiotactique et mitogène ; Cf. Chap. 1-5 page 49) **pour les cellules musculaires lisses et les fibroblastes**. En combinaison avec d'autres facteurs plaquettaires, comme le *facteur de croissance fibroblastique (FGF)*, le PDGF est mitogène pour les fibroblastes et **stimule la production fibroblastique de collagénase**, aidant ainsi à la résolution de l'inflammation [19].

D'autre part, les plaquettes assistent les monocytes en adhérant aux surfaces inflammatoires. Les monocytes ont des récepteurs pour la *thrombospondine* et la *fibronectine*, protéines adhésives libérées par les plaquettes (granulations α). La thrombospondine aide le monocyte à adhérer à la masse plaquettaire tandis que la fibronectine se lie à d'autres surfaces comme les cellules endothéliales ou les bactéries.

Les macrophages et les plaquettes produisent une **galactosyltransférase**, une enzyme qui digère les composants de la matrice extracellulaire, permettant ainsi le mouvement des cellules vers le site inflammatoire.

6.3. Plaquettes et neutrophiles

Les plaquettes interagissent avec les neutrophiles en libérant des **facteurs chimiotactiques comme le FP 4, le PDGF et le HETE ainsi qu'en clivant le C5**. La plupart des facteurs chimiotactiques sont rapidement inactivés dans le plasma mais la production plaquettaire a l'avantage d'avoir une activité chimiotactique qui est prolongée dans le microenvironnement du clou hémostatique.

Les produits plaquettaires influencent également le fonctionnement des neutrophiles. La sérotonine et le thromboxane A2 augmentent significativement *in vitro* l'adhésion des neutrophiles aux cellules endothéliales. Le FP 4 renforce la capacité élastase des neutrophiles humains, en induisant un changement conformationnel de la molécule d'élastine, exposant ainsi plus de sites pour la dégradation enzymatique [19]. La libération locale du FP 4 contribue d'ailleurs probablement à la rupture de l'élastine des poumons lors de pneumonie et de maladie pulmonaire obstructive chronique.

Bien que de nombreux produits plaquettaires renforcent de manière évidente la fonction neutrophilique, **des effets plaquettaires anti-inflammatoires** ont également été suggérés. Une réponse inflammatoire significativement augmentée a été observée chez des rats délétés en plaquettes [19]. Les plaquettes sont capables *in vitro* d'inhiber la lyse de globules rouges par les neutrophiles. La libération d'adénosine par les plaquettes et d'autres cellules inhibent l'adhésion des neutrophiles et le relargage de peroxyde d'hydrogène H₂O₂. La libération plaquettaire d'acide

hydroxyeicosatétranoïque (HETE) agit à la fois comme un stimulant et un dépresseur des neutrophiles ; le HETE renforce le chimiotactisme des neutrophiles et le métabolisme oxydatif mais aussi stimule la production de prostacyclines par les cellules endothéliales, inhibitrices de l'adhésion des plaquettes et des neutrophiles.

6.4. Plaquettes, inflammation et microorganismes

Les plaquettes peuvent être activées par un grand nombre d'agents inflammatoires comme les bactéries, virus et complexes antigènes-anticorps. Les conséquences biochimiques de ces interactions sont similaires à celles induites par d'autres types d'agonistes comme le collagène et la thrombine. Plusieurs mécanismes entrent en jeu dans l'activation plaquettaire par de tels composés inflammatoires :

- interaction des lipopolysaccharides endotoxiques avec le fibrinogène et les récepteurs à la fibronectine de la surface plaquettaire, avec la libération consécutive d'acide arachidonique et de thromboxane B₂.

- induction d'une activité procoagulante à la surface plaquettaire : en effet, un assemblage augmenté du complexe prothrombinase survient chez les plaquettes humaines après exposition à la toxine α , la lysine majeure de *Staphylococcus aureus*. Cette toxine facilite le développement de l'activité prothrombinase en promouvant l'exocytose du facteur V et du facteur plaquettaire FP 4 issus des granules plaquettaires α et en renforçant la liaison du facteur plasmatique V activé à la surface plaquettaire.

Remarque :

L'activation plaquettaire et le développement d'une activité procoagulante lors de la présence de composés phlogogènes peut être partiellement responsable du déclenchement d'une coagulation intravasculaire disséminée (Cf. Chap. 2-1.3.1. page 83).

Amplification	Chimiotaxis Augmentation de la perméabilité vasculaire Assistance à l'adhésion des cellules de l'inflammation Fourniture de substrats à la réaction inflammatoire Activation du complément
Modulation	Inhibition de l'adhésion des neutrophiles Possible inhibition de la lyse cellulaire

Résolution	Facteurs de croissance
------------	------------------------

Tab. VI : Intervention des plaquettes dans la réaction inflammatoire [19].

7. Plaquettes et défense contre les microorganismes

7.1. Plaquettes et bactéries

▶ La phagocytose plaquettaire

On a montré la capacité des thrombocytes humains à phagocyter des bactéries ainsi que des particules de latex. La phagocytose se réalise **par internalisation dans le système des canalicules ouverts et non par formation de pseudopodes** comme lors de la phagocytose leucocytaire. Les plaquettes en elles-mêmes ne sont pas capables de tuer les bactéries phagocytées mais l'ensemble est alors soustrait du flux sanguin par le système des phagocytes mononucléés.

Les plaquettes sont également **capables de lier l'endotoxine**.

Les bactéries peuvent entraîner l'agrégation plaquettaire autour d'elles, ce qui est à la fois bénéfique et risqué pour l'organisme. En effet, de larges agrégats de plaquettes et bactéries sont facilement repérés et détruits ; mais les agrégats plaquettaires peuvent aussi servir de bouclier aux bactéries contre l'action d'antibiotiques. La récurrence des endocardites canines après traitement antibiotique est ainsi bien connue [19].

▶ La β -lysine

La β -lysine, un composé thermostable bactéricide du sérum, a été identifiée dans les granules α plaquettaires et est sécrétée durant la coagulation sanguine, des processus inflammatoires, des réactions antigènes-anticorps ou des bactériémies. La β -lysine est bactéricide vis-à-vis de certaines bactéries (comme *Bacillus subtilis*) et bactériostatique vis-à-vis d'autres (comme *Escherichia coli*) ; elle est capable d'amplifier la lyse des bactéries Gram négatif par le système du complément. Une protéine dérivée des plaquettes a même été mise en évidence comme pouvant exercer une potentielle activité bactéricide contre *Staphylococcus aureus* [76].

☞ Au vu de la fonction plaquettaire dans la défense de l'organisme contre l'infection bactérienne, il a été suggéré que les patients thrombocytopéniques pouvaient être transfusés à titre prophylactique afin d'augmenter leur résistance à une possible infection bactérienne.

7.2. Plaquettes et virus

Les interactions virus-plaquettes dans la phase aiguë de l'infection résultent souvent en une thrombocytopénie. Les mécanismes impliqués incluent la lyse plaquettaire viro-induite [19],

la destruction à médiation immunitaire (les antigènes viraux et les anticorps antiviraux se fixent de façon privilégiée à la surface des membranes plaquettaires, provoquant la phagocytose des plaquettes ainsi opsonisées), la consommation plaquettaire par coagulation intravasculaire disséminée et/ou une diminution de la production de mégacaryocytes (parvovirus de type 2, paramyxovirus de la maladie de Carré).

Le rôle des plaquettes dans la lutte contre l'infection virale semble donc limité, voire inexistant.

7.3. Plaquettes et parasites

Des études ont montré que les plaquettes de rats et humains atteints de schistosomose étaient capables de sécréter un facteur toxique pour les larves schistosomales, la libération de ce facteur s'effectuant sous l'action d'anticorps Ig E liant spécifiquement un récepteur membranaire plaquettaire [19]. **Cette action antiparasitaire des plaquettes** est une découverte relativement récente et inattendue.

CONCLUSION

Les plaquettes jouent un rôle fondamental dans l'hémostase primaire ainsi que dans l'hémostase secondaire où elles sont le support physique de la coagulation. Il est alors aisé de comprendre que tout désordre plaquettaire quantitatif ou qualitatif aura des conséquences graves sur la délicate balance de l'hémostase.

Les processus tumoraux sont particulièrement générateurs de tels désordres. L'étiologie, la pathogénie, le diagnostic, le traitement des désordres plaquettaires survenant lors de néoplasie et leurs implications dans la gestion de la maladie, sont envisagés dans les chapitres suivants.

CHAPITRE 2 : PATHOGENIE DES DESORDRES PLAQUETTAIRES LORS DE PROCESSUS TUMORAL

INTRODUCTION

Beaucoup de travaux ont été consacrés à l'étude de la pathogénie des désordres plaquettaires survenant lors de processus tumoral, compte-tenu des implications cliniques et pronostiques qu'ils revêtent en médecine humaine comme en médecine vétérinaire.

Trois désordres plaquettaires au cours de la croissance d'une tumeur peuvent être distingués :

- les thrombocytopénies, trouble plaquettaire le mieux documenté
- les thrombocytoses plus rares
- les thrombocytopathies ou troubles du fonctionnement plaquettaire de plus en plus décrits et d'importance grandissante.

Nous verrons quelles sont les différentes causes de ces désordres dans le cadre d'un processus néoplasique et leurs conséquences dans l'expression clinique de la maladie (clinique hémorragique *versus* clinique thrombotique) ainsi que les méthodes diagnostiques.

1. Thrombocytopénie

1.1. Réduction de la thrombopoïèse

Cette thrombopénie, qualifiée de centrale, est induite par une chute de la production des plaquettes dans la moelle osseuse, par hypoplasie ou aplasie de la moelle. L'hypoplasie de la moelle osseuse peut être spécifique à la lignée plaquettaire ou bien impliquer les autres lignées cellulaires.

Une réduction de la thrombopoïèse a été rapportée chez les chiens souffrant de myélophthisie, syndrome myélodysplasique, de sertolinome ou autres tumeurs sécrétantes d'œstrogènes, et chez les chiens traités par certaines chimiothérapies.

1.1.1. Myélophthisie

La myélophthisie est définie comme l'envahissement de la moelle osseuse par des cellules tumorales, entraînant son dépérissement. Elle est caractérisée par une pancytopénie circulante, dont une thrombocytopénie. Différentes hypothèses ont été proposées pour expliquer la chute de production des cellules sanguines lors de myélophthisie et incluent [17,161] :

- une occlusion de la vascularisation de la moelle par des thrombi tumoraux
- une compétition pour les nutriments entre cellules normales et tumorales
- une lyse et phagocytose des cellules myéloïdes par des cellules tumorales adjacentes
- une suppression paracrine de la thrombopoïèse par des substances produites par les infiltrats tumoraux.

Certaines études ont montré en effet la production de substances par des cellules leucémiques, comme les **lactoferritines acides** par exemple, capables d'inhiber la culture de colonies myéloïdes [16].

Toutefois, des études plus récentes suggèrent que l'effet suppressif des cellules tumorales sur l'hématopoïèse ne réside pas dans la sécrétion de facteurs humoraux : des analyses *in vitro* de cellules de patients humains à leucémie lymphoblastique aiguë, révèlent que la perte de viabilité des cellules leucémiques induite par des radiations ionisantes, n'atténue pas leur effet inhibiteur sur la croissance de cellules progénitrices adjacentes [71].

Sans connaître parfaitement le mécanisme exact, la plupart des chercheurs s'accordent donc à dire aujourd'hui que l'inhibition de l'hématopoïèse **résulte d'un changement du microenvironnement de la moelle osseuse**, induit par l'infiltration des cellules tumorales [18].

Les syndromes myéloprolifératifs et lymphoprolifératifs (comme le lymphosarcome, la leucémie aiguë, le myélome multiple [146]) sont des maladies dans lesquelles la myélophthisie fait partie intégrante du processus pathologique [161, 69]. De façon intéressante, une thrombocytopénie a aussi été rapportée en conjonction avec une leucopénie, chez un chien à leucémie mégacaryocytaire et a été attribuée au phénomène myélophthisique créé par la présence des mégacaryocytes tumoraux [20]. Moins fréquemment, des métastases non-lymphoïdes d'adénocarcinomes mammaires, prostatiques et nasaux ont été également associées chez l'Homme et parfois chez le chien, à une myélophthisie [69, 161].

Occasionnellement, des cellules tumorales peuvent être présentes dans la moelle osseuse sans induire de thrombocytopénie ou autre cytopénie concomitante. Les cellules tumorales sont alors en nombre insuffisant pour causer une hypoproduction des cellules sanguines cliniquement détectable. Cette situation survient dans 20% des lymphosarcomes, où une invasion de la moelle osseuse a été mise en évidence sans anomalie hématologique périphérique [69].

Le diagnostic de la myélophthisie requière une **ponction ou une biopsie de moelle osseuse**. Il est plus aisé d'identifier des cellules anormales par biopsie de moelle osseuse, étant donné que cette méthode permet d'obtenir un échantillon plus large de cellules. De plus, il est recommandé d'effectuer plusieurs prélèvements afin d'augmenter ses chances de détecter des cellules tumorales.

Le traitement de la thrombocytopénie due à une myélophthisie passe par la thérapie spécifique de la tumeur en cause.

1.1.2. Myélodysplasie

Ce terme a été utilisé chez l'Homme pour décrire un groupe d'anomalies hématologiques aboutissant à leur terme au développement d'une leucémie aiguë. Dans la littérature vétérinaire, de telles anomalies hématologiques ont été décrites chez le chien [30], le chat [65, 70] (spécialement les animaux FeLV -virus leucémogène félin- positif) et le cheval [139]. Ce syndrome est qualifié de syndrome myélodysplasique, considéré comme un **état pré-leucémique**. Il est caractérisé par **un arrêt ou une aberration de la séquence de maturation des cellules sanguines**, ayant pour conséquence la libération dans la circulation de cellules morphologiquement anormales ou bien ressemblant à des blastes.

Comme lors de myélophthisie, les paramètres sanguins montrent une anémie, neutropénie et thrombocytopénie. Les plaquettes sanguines peuvent être larges, de forme anormale et/ou contenir des granules atypiques [24].

L'examen cytologique de la moelle osseuse montre habituellement une **hyperplasie** avec une surabondance de précurseurs cellulaires immatures ; toutefois, la cellularité peut aussi être normale. Néanmoins, la présence de précurseurs anormaux, d'une ou de toutes les lignées cellulaires, est une constante. Les mégacaryocytes peuvent être augmentés en nombre, larges avec une morphologie cytoplasmique et nucléaire anormale (grands mégacaryocytes mononucléés) ou bien au contraire être nains (micromégacaryocytes) [70, Cf. Tab VII page 65].

Dysplasie	Nombre de chats	Pourcentage
Dysérythropoïèse		
Erythrocytes mégaloblastoïde	9/16	56%
Sidéroblastes en anneau	1/7	14%
Fragmentation nucléaire	10/16	63%
Morpho. nucléaire anormale	10/16	63%
Macrocytose	9/16	56%
Dysthrombopoïèse		
Micromégacaryocytes	10/16	63%
Mégacaryocytes larges mononuclés	10/16	63%
Plaquettes larges	11/16	69%
Dysmyélopoïèse		
Hyposégmentation neutrophile (pseudo-anomalie nucléaire de Pelger-Huët)	7/16	44%
Hypersegmentation neutrophile	10/16	63%
Gigantisme cellulaire	8/16	50%
Anomalies nucléaires	13/16	81%
Granulations cytoplasmiques anormales	6/16	38%

Tab. VII : Anomalies hématologiques lors de syndromes myéلودysplasiques [70].

La cause de la thrombocytopénie est ici une **dyshématopoïèse**, la production inefficace de cellules sanguines. Chez l'Homme souffrant d'un syndrome myéلودysplasique, les premières anomalies hématologiques sont trouvées dans la lignée érythroïde, puis la lignée mégacaryocytaire est atteinte et enfin, la lignée myéloïde. Cette constatation a été aussi observée chez le chat [70].

Le traitement est décevant, même lors de **chimiothérapie agressive** et la plupart des patients meurent d'hémorragie ou de sepsis [39].

De nouvelles approches thérapeutiques ont vu le jour en médecine humaine, comme l'emploi d'agents connus pour induire la différenciation cellulaire, tel **la cytosine arabinoside** à faible dose (10 mg/m² 2 fois par jour) et **l'acide 13-cis-rétinoïque**.

1.1.3. Les tumeurs sécrétantes d'œstrogènes [39, 57]

Les œstrogènes sont bien connus pour exercer un effet toxique sur la moelle osseuse, à l'origine d'une hypoprolifération de toutes les lignées cellulaires sanguines. Cette toxicité des œstrogènes est une des causes les plus communes **d'aplasie de la moelle osseuse** en médecine vétérinaire. Elle est bien connue chez le chien qui semble être plus sensible aux œstrogènes que le chat, la souris, le rat, le porc ou le singe. Les deux sexes sont atteints indifféremment.

La toxicité des œstrogènes, en tant que phénomène paranéoplasique, a été décrite chez les chiens mâles à tumeurs testiculaires des cellules de Sertoli. Les exemples rapportés le plus souvent sont ceux de Sertolinome extra-scrotal, suggérant que l'hypoplasie de la moelle osseuse est plus vraisemblablement associée aux Sertolinomes de testicules cryptorchides [39]. On doit donc suspecter cette situation chez les chiens mâles présentant une thrombocytopénie (ainsi que d'autres cytopénies) et une masse abdominale ou inguinale, un cryptorchidisme, des signes de féminisation (gynécomastie, prépuce pendulaire, atrophie pénienne, atrophie du testicule controlatéral, attraction des chiens mâles), des modifications prostatiques et dermatologiques.

Chez la femelle, les tumeurs ovariennes de la granulosa produisent un hyperœstrogénisme chez environ la moitié des animaux affectés.

Bien que toutes les lignées sanguines soient affectées, la lignée mégacaryocytaire est la plus sévèrement affectée par l'administration d'œstrogènes exogènes [76, 130]. **Le bilan sanguin** périphérique est celui d'une anémie arégénérative avec leucopénie (une leucocytose peut initialement exister) et thrombocytopénie, s'accompagnant d'hémorragies et de sepsis.

L'effet myélotoxique semble se produire sur les colonies cellulaires indifférenciées. **Le mécanisme d'action** n'est pas clair : l'effet est-il direct ou bien indirectement médié par une altération de la production et du fonctionnement de facteurs humoraux (comme l'érythropoïétine et les colony-stimulating factors) [136]? La myélofibrose est la séquelle terminale lors d'hyperœstrogénisme prolongé.

Expérimentalement, une dose unique (massive) d'oestradiol de 8 à 16 mg/kg cause une toxicité médullaire irréversible [32] (à titre indicatif, le benzoate d'oestradiol est utilisé en médecine vétérinaire comme traitement abortif chez la chienne à la dose de 0,01 mg/kg en une seule injection, sans dépasser 0,5 mg par chienne).

L'aplasie médullaire est souvent réfractaire à tout traitement en dépit de l'excision complète de la tumeur et la normalisation du taux en œstrogènes [136].

Le traitement consiste en des transfusions de sang frais ou de plasma riche en plaquettes, en l'administration de stéroïdes androgènes et de glucocorticoïdes pour stimuler l'hématopoïèse et d'antibiotiques. **Le citrate de lithium** a été également cité pour lutter contre l'aplasie médullaire induite par les œstrogènes mais aucun essai thérapeutique n'a été réalisé dans le cadre de tumeurs des cellules de Sertoli ou de la granulosa.

1.1.4. Thrombocytopénie induite par chimiothérapie

Les protocoles de chimiothérapie utilisés en médecine vétérinaire sont moins agressifs que ceux utilisés en médecine humaine et donc plus souvent à l'origine de neutropénie que de thrombocytopénie. Cette disparité de l'effet suppressif sur une lignée cellulaire plus que sur une autre, suggère que l'inhibition de l'hématopoïèse par les agents de chimiothérapie s'exerce de façon prédominante sur les progéniteurs engagés plutôt que sur les cellules pluripotentes [88]. De plus, les lignées cellulaires engagées présentent des sensibilités différentes aux agents cytotoxiques.

On divise les substances anti-cancéreuses en plusieurs familles en fonction de leur mode d'action :

- les antimétabolites qui inhibent la biosynthèse de l'ARN et ADN et qui comprennent les anti-foliques (le méthotrexate), les anti-purines (l'azathioprine et la 6 -mercaptapurine), les anti-pyrimidiques (la cytosine arabinoside, le 5-fluorouracile) et les divers (hydroxyurée, hydroxycarbamide) .
- les alkylants et apparentés qui modifient la structure des acides nucléiques en créant des liaisons de covalence inter-brins. Ce sont le chlorambucile, le cyclophosphamide, le cisplatine, le melphalan...
- les agents intercalants qui s'intercalent entre 2 paires de base : la doxorubicine, l'actinomycine D
- les antimitotiques fusoriaux qui inhibent la polymérisation des microtubules lors des divisions cellulaires tels que les dérivés du taxane (docétaxitel) ou les alcaloïdes de la pervenche (vincristine et vinblastine).
- les anticancéreux divers : la bléomycine, scindant l'ADN, la L-asparginase (les cellules leucémiques sont dépourvues d'asparagine synthétase), les corticoïdes...

Toutes ces substances agissent sur les cellules qui ont un renouvellement rapide et une forte activité de production ; les cellules de la moelle osseuse et en particulier les cellules de la lignée mégacaryocytaire correspondent à ce type de cible. De plus, les chiens présentant une infiltration

tumorale de la moelle osseuse sont plus sensibles aux effets cytotoxiques des agents anti-cancéreux [64].

Chez le chien, la dépression maximale de la numération plaquettaire survient au 9^{ème} – 10^{ème} **jour après l'administration de l'agent**, ce qui correspond au temps de survie plaquettaire (8 à 10 jours chez l'Homme). Durant l'épisode de myélosuppression chimio-induite, les plaquettes sont de **petite taille** et les mégacaryocytes présentent une polyplôidie anormalement basse. En médecine vétérinaire, la thrombocytopénie est transitoire et le retour à la normale (voire à la thrombocytose) s'effectue 7 à 10 jours après le nadir, parfois même plus tôt.

Les agents utilisés de façon courante en oncologie vétérinaire, comme la doxorubicine (Adriblastine®) et le cyclophosphamide (Endoxan®), ne causent habituellement pas de thrombocytopénie ayant une répercussion clinique. La numération plaquettaire est alors rarement inférieure à 70 000 / μ L, bien que ce taux puisse descendre dangereusement plus bas (<30 000 / μ L), surtout si une atteinte de la moelle osseuse préexiste.

Des thrombocytopénies modérées à sévères sont observées lors de l'utilisation de cisplatine, bléomycine, chlorambucile, hydroxyurée, darcabazine et cytosine arabinoside (substance anti-cancéreuse des plus toxiques pour les mégacaryocytes). La combinaison de plusieurs agents de chimiothérapie ne produit pas une thrombocytopénie significativement plus importante que si les agents sont employés seuls ; par contre, on ne peut pas en dire autant au sujet de la neutropénie.

☞ Le suivi du bilan hématologique d'un patient sous chimiothérapie est donc primordial et doit être effectué régulièrement (toutes les semaines).

Chez les animaux sévèrement thrombocytopéniques, la transfusion de plasma riche en plaquettes ou de sang frais entier doit être effectuée. L'administration de l'agent est différée et la dose suivante peut être diminuée. Ces animaux doivent être protégés des risques traumatiques.

Enfin, certains agents (la vincristine - Oncovin® - par exemple) peuvent causer une thrombocytose liée à une libération prématurée des plaquettes par la moelle osseuse (Cf. Chap. 2-2.4. page 99).

1.1.5. Infections compliquant ou accompagnant un cancer

Du fait des effets immunosuppresseurs du cancer et des thérapies anti-cancéreuses, des **infections opportunistes** peuvent jouer un rôle important dans la pathogénie de la thrombocytopénie. Ainsi par exemple, les infections rickettsiales comme *Ehrlichia canis* (présente en France) et *Rickettsia rickettsii* (agent de la Rocky Mountain spotted fever aux USA) peuvent

conduire à une thrombocytopénie, par une variété de mécanismes [32]. L'infection chronique de *Ehrlichia canis* est caractérisée par une hyperplasie des lignées mégacaryocytaire et granulocytaire, qui progresse vers l'hypoplasie de la moelle osseuse, avec une suppression marquée de la lignée mégacaryocytaire [32] (la thrombocytopénie de la phase aiguë de l'ehrlichiose est associée à des phénomènes de CIVD, de destruction –mécanismes immuns- et de séquestration dans la rate- [106]).

Le virus leucémogène félin (FeLV) est aussi connu pour causer un état thrombocytopénique chez le chat. L'hypoplasie de la lignée mégacaryocytaire est alors associée à de nombreux désordres des lignées sanguines dont l'anémie aplasique [143].

Dans le cas du FeLV, les lésions de la moelle sont directement induites par le virus plutôt que secondaires à une maladie myéloproliférative.

Chez les chats infectés, le virus se multiplie dans toutes les cellules nucléées de la moelle osseuse, ayant pour conséquence une déplétion des précurseurs des cellules sanguines, de la thrombocytopénie à la pancytopenie [39].

1.2. Augmentation de la destruction plaquettaire

1.2.1. Destruction à médiation immune

Une autre cause majeure de thrombocytopénie est la destruction à médiation immune des plaquettes, induite par la présence de cellules tumorales. Bien que plus souvent associé à des tumeurs hématopoïétiques, ce syndrome a été décrit également chez l'Homme [133] et le chien, souffrant de tumeurs solides comme un adénocarcinome mammaire, un mastocytome, un hémangiosarcome, un adénocarcinome nasal et un fibrosarcome [68]. Dans ces cas, la pathogénie de la thrombocytopénie a été caractérisée par des techniques d'immunofluorescence directe sur les mégacaryocytes, utilisant des anti-corps de lapin anti-chien, conjugués à la fluorescéine [68]. Bien que le test au facteur plaquettaire 3 ait été également réalisé, il apparaît que ce dernier soit moins sensible que l'immunofluorescence (Cf. Chap. 2-1.2.1.2. page 69).

1.2.1.1. Mécanismes

Divers mécanismes ont été proposés pour expliquer la destruction plaquettaire à médiation immune dans le cadre d'une affection tumorale. On retiendra :

- l'opsonisation, secondaire à l'altération de la membrane plaquettaire, causée par le passage des plaquettes dans une vascularisation tumorale anormale. Une microvascularisation aberrante a en effet été décrite dans les hémangiosarcomes et les carcinomes étendus [1].

- la production directe d'anticorps anti-plaquettes par les cellules tumorales elles-mêmes (maladies lymphoprolifératives, à l'origine de cellules lymphoïdes anormales reconnaissant les antigènes plaquettaires comme non-soi).

- la production, induite par les antigènes tumoraux, d'anticorps qui réagissent de façon croisée avec les antigènes plaquettaires [35, 68].

- le recouvrement non-spécifique de la surface plaquettaire par des antigènes tumoraux circulants ou par des immuns-complexes [143].

Secondairement, les plaquettes sont phagocytées par le système des phagocytes mononucléés ; celles lourdement recouvertes d'anticorps sont phagocytées dans le foie, les autres – la majorité- le sont dans la rate. Par exemple, le recouvrement des plaquettes par des paraprotéines produites lors de myélome multiple, prédispose à la destruction plaquettaire à médiation immune par la rate (ce manteau de paraprotéines conduit également à des dysfonctionnement plaquettaires Cf. page 92).

1.2.1.2.Diagnostic

☞ Le diagnostic doit être fait grâce à une *combinaison des résultats* issus de :

- **tests immunologiques** comme surtout l'immunofluorescence positive [21], le test du facteur plaquettaire 3 (FP 3) et le test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) (Cf. ci-après page 64).

- **l'hématologie** : on peut alors mettre en évidence une thrombocytopénie, une élévation du volume plaquettaire principal, des sphérocytes et/ou une agglutination si une anémie est également présente. **La présence de schizocytes, résultant de la fragmentation physique** des globules rouges est une preuve d'une destruction à médiation non immune des érythrocytes et probablement des thrombocytes, si anémie et thrombocytopénie sont associées.

- **l'examen cytologique de la moelle osseuse** : elle peut montrer des changements morphologiques de la lignée mégacaryocytaire et non des autres lignées, comme une *hyperplasie mégacaryocytaire, avec des mégacaryocytes augmentés en nombre, caractéristique d'une réponse à la destruction périphérique des thrombocytes.*

Remarque :

Lors de destruction plaquettaire périphérique, la stimulation de la thrombopoïèse s'accompagne de l'apparition dans la circulation de **grandes plaquettes**, dites "de stress" (contenant plus de granules α), au même titre que des réticulocytes sont vus lors d'anémie hémolytique aiguë. Le volume plaquettaire est d'autant plus augmenté que la thrombocytopenie est sévère.

☞ Ceci suggère que *le volume plaquettaire peut être un marqueur de l'intensité de l'hématopoïèse* [52].

Néanmoins, lors de thrombopénie à médiation immune, l'hypoplasie peut être aussi présente, ou bien le cytoplasme peut être vacuolisé et spumeux, étant donné que *plaquettes et mégacaryocytes partagent les mêmes antigènes* [149] ; une réponse immunitaire peut donc aussi être dirigée contre les mégacaryocytes [78, 105]. A noter que des modifications de la lignée mégacaryocytaire peuvent exister sans destruction périphérique, sans thrombocytopenie [68].

- la réponse à la thérapie immunosuppressive ou à la splénectomie.

C'est enfin un **diagnostic d'exclusion** par lequel aucune autre cause possible de thrombocytopenie n'aura pu être identifiée [126].

▶ Les tests immunologiques

Plusieurs tests ont été développés en médecine vétérinaire pour étudier les phénomènes immuns de destruction plaquettaire.

- le test du FP 3

Ce test est un indicateur spécifique de la présence d'anticorps circulants anti-plaquettes. Le sérum du patient est mis en présence d'un plasma riche en plaquettes (obtenu grâce à une centrifugation différentielle de sang entier frais sur anticoagulant de dextrose citraté acide, 300g pendant 10 min, récupération des 2/3 supérieurs) d'un animal contrôle. Si des anticorps sont présents dans le sérum du patient, le facteur plaquettaire 3 est alors libéré activement, du fait des dommages causés aux membranes plaquettaires par la réaction immunitaire.

Le facteur plaquettaire 3 est un ensemble de phospholipides situés en face interne de la membrane quand la plaquette est au repos, mais extériorisé lors de l'activation (par un phénomène dit de « flip-flop ») pour être le **support physique de la coagulation** (Cf. Chap. 1-1.2.1.2. page 18). Sa libération en quantité excessive entraîne une coagulation accélérée du plasma normal (en présence des facteurs de coagulation activés XII et XI et d'ions calcium).

Le test est considéré comme positif si le temps de coagulation avec le sérum des patients est raccourci d'au moins 10 secondes par rapport à celui du sérum de contrôle.

Toutefois, la sensibilité de ce test sur sérum entier est faible (de 29% à 65%) [84]. En effet, le test du FP 3 requière des taux élevés d'anticorps liés aux plaquettes, avant que celles-ci ne soient lysées et que les effets de la libération du FP 3 ne surviennent [68]. Il est donc possible que la quantité d'anticorps fixée, soit insuffisante pour déclencher la lyse et être à l'origine d'un test du FP 3 faussement négatif, mais néanmoins suffisante pour être détectée par des techniques plus sensibles comme l'immunofluorescence directe. On peut malgré tout augmenter cette sensibilité en travaillant uniquement sur la fraction globuline du sérum ; mais cette procédure est compliquée et longue (3 jours).

- l'immunofluorescence directe et indirecte

On utilise une immunofluorescence directe sur mégacaryocytes pour détecter d'éventuels anticorps anti-plaquettaires fixés (**MIFA pour Megacaryocyte Immunofluorescence Assay**).

On réalise une ponction de moelle osseuse. Après rinçage et fixation dans l'éthanol absolu, les lames sont exposées à des anticorps de lapin (ou de chèvre) anti-immunoglobuline G de chien, conjugués avec de l'isothiocyanate de fluorescéine puis sont observées au microscope à UV ou en

cytométrie de flux après 1 heure. Une fluorescence modérée à forte indique la présence d'immunoglobulines fixées sur la membrane des mégacaryocytes.

Cette technique, plus récente, est préférée car elle présente une bonne spécificité et est plus sensible que le test du FP 3 [68]. Son utilisation clinique est parfois limitée en raison des difficultés de la réalisation d'une ponction médullaire sur des chiens thrombocytopéniques, d'obtention d'un étalement de moelle osseuse suffisamment riche en mégacaryocytes (1% des cellules en temps normal) et de l'existence parfois d'une fluorescence de fond non spécifique.

La détection directe d'anticorps anti-plaquettaires sur la surface des plaquettes circulantes est difficile compte tenu de la difficulté de récolter suffisamment de plaquettes chez un patient thrombocytopénique.

L'immunofluorescence indirecte plaquettaire (**PIFA pour Indirect Platelet Immunofluorescence Assay**) est fréquemment utilisée chez l'Homme et est rapportée comme étant hautement reproductible. Une méthode similaire a donc été développée chez le chien [84] et sa sensibilité comparée au MIFA. Un échantillon de sérum du patient est mis au contact d'une préparation de plaquettes -un plasma riche en plaquettes – (incubation 30 min), puis mis en présence d'anticorps de chèvre anti-immunoglobulines G de chien, conjugués à la fluorescéine. La fluorescence obtenue après une nouvelle incubation de 30 minutes dans le noir, est observée au microscope à UV ou en cytométrie de flux.

Les essais ont montré une sensibilité du PIFA (67%) supérieure aux sensibilités du test du FP 3 (29% à 65%) et du MIFA (41%), mais inférieure à la sensibilité de la méthode ELISA décrite ci-après [84]. La sensibilité du PIFA peut être augmentée en utilisant des anticorps spécifiques des Ig M, C3 ou Ig A en plus de l' Ig G. L'immunofluorescence indirecte plaquettaire fournit donc une méthode semi-quantitative simple pour la détection d'anticorps anti-plaquettaires circulants.

- le test ELISA

Cette méthode immuno-enzymatique a été développée pour détecter les anti-corps sériques circulants dirigés contre les plaquettes canines. La méthode utilise une immunoglobuline G de cheval anti-chien, conjuguée à une peroxydase, que l'on met en présence avec le substrat (O-dianisidine), les plaquettes du patient (méthode directe, difficile à réaliser en raison de la difficulté de récupérer des plaquettes chez un patient sévèrement thrombocytopénique) ou bien son sérum et un pool de plaquettes d'un donneur (méthode indirecte). La mesure de l'activité enzymatique fournit une indication sur la présence d'anticorps liant les plaquettes du patient.

Ce test est sensible. Cette technique combine en effet la **spécificité d'une réaction anticorps avec l'amplification d'une réaction enzymatique, rendant l'ELISA hautement sensible dans la détection des anticorps anti-plaquettes** ($Se=88\%$), plus que le test du FP 3, le MIFA et le PIFA [21].

Mais la limite de sensibilité de l'ELISA indirecte est atteinte, comme celle de la PIFA, quand la plupart des anticorps sont adsorbés sur les propres plaquettes du patient.

☞ L'immunofluorescence en cytométrie de flux et l'ELISA sont maintenant disponibles depuis peu en routine pour le praticien vétérinaire [23]. L'immunofluorescence en cytométrie de flux est la technique semblant donner le plus de satisfaction aux laboratoires car plus facilement reproductible que la méthode ELISA.

Remarque :

Dans la plupart des réactions immunoenzymatiques comme des réactions d'immunofluorescence, il a été rapporté l'existence d'une **coloration ou d'une fluorescence de fond non spécifique**, pouvant être à l'origine d'une difficulté d'interprétation des échantillons et de **faux positifs**.

Les origines possibles de ce "bruit de fond" sont, par exemple pour l'ELISA : l'adhérence non-spécifique aux tubes de polystyrène des anticorps du sérum du patient et/ou de l'Ig G de cheval anti-chien, conjuguée à la peroxydase, l'adhérence non-spécifique aux plaquettes des Ig G anti-chien conjugués à la peroxydase, la libération d'Ig G intracellulaires par les plaquettes (pendant le lavage, le stockage ou l'incubation), une activité endogène peroxydasique des plaquettes et la liaison non-spécifique d'Ig G aux récepteurs Fc des plaquettes.

Tout ceci variant d'un chien à un autre, la quantité de la coloration ou de la fluorescence de fond doit donc être évaluée pour chaque lot [21].

- D'autres tests de laboratoire existent pour la détection des anticorps anti-plaquettaires comme **la réaction de fixation du complément, la libération de chrome 51, la libération de sérotonine marquée au carbone 14, l'inhibition de la lyse du complément, la radioimmunologie et la protéine A de staphylocoque marquée à l'iode 125**. Mais tous sont compliqués, nécessitent du temps et sont souvent à l'origine de résultats d'interprétation délicate [21].

☀ Les techniques immunologiques peinent donc à démontrer avec certitude l'existence d'une destruction à médiation immune, compte tenu des défauts de sensibilité et spécificité des tests employés pour identifier les plaquettes opsonisées.

En effet, même la simple manipulation des échantillons peut exposer des antigènes auxquels les immunoglobulines étaient jusque là aveugles, et ainsi être à l'origine de faux positifs pour les méthodes directes. De plus, les patients présentant des auto-anticorps anti-plaquettes ne montrent pas forcément des signes hématologiques de destruction plaquettaire (comme une thrombocytopenie, une élévation du volume plaquettaire ou une hyperplasie mégacaryocytaire dans la moelle osseuse), émettant ainsi des réserves quant à la signification biologique de ces tests [85].

1.2.1.3. Anticorps et immuns-complexes

Chez le sujet normal, **environ 100 molécules d'immunoglobulines G sont normalement présentes sur la surface plaquettaire** (ceci a été mesuré grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux marqués à l'iode 125 qui réagissent avec la fraction Fc de toutes les sous-classes d'Ig G ou de la protéine A de staphylocoque marquée à l'iode 125). **Lors de thrombocytopenie à médiation immune, ce nombre est multiplié par 10 à 40.**

La quantité d'anticorps associés aux plaquettes est inversement corrélée à la numération plaquettaire [68, 84] ; ainsi la thrombocytopenie modérée, observée dans la plupart des cas de thrombopénie à médiation immune, ne reflète qu'une quantité modeste d'anticorps fixés aux plaquettes (Cf. Fig. 12 page 75). Enfin, il a été montré chez l'Homme que la quantité d'immunoglobulines associées à la surface plaquettaire est en corrélation avec l'existence d'une destruction plaquettaire à médiation immune [52].

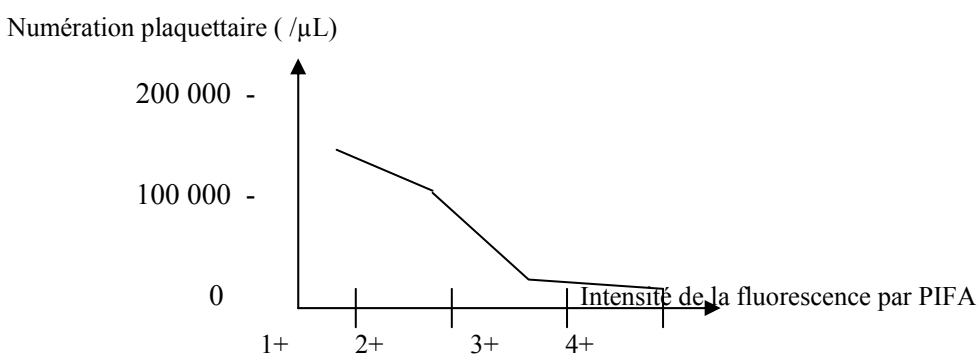


Fig. 12 :Corrélation inverse de l'immunofluorescence par PIFA avec la numération plaquettaire [84]

Dans une étude récente, 37% des chiens cancéreux thrombocytopeniques furent PIFA positifs [84]. Une étude antérieure, sept chiens thrombocytopeniques à tumeurs solides et déclarés MIFA

positifs, virent leur numération plaquettaire se normaliser après chirurgie et/ou thérapie immunosuppressive [68]. De plus, la thrombocytopénie à médiation immune est fréquente chez les patients humains présentant des désordres lymphoprolifératifs [4, 95]. Trente neuf pour cents des patients atteints d'un lymphome de Hodgkin et 20% des patients atteints d'un lymphome non-Hodgkinien, montrèrent des anticorps anti-plaquettes détectables [4] et ici chez plusieurs patients, une corrélation entre la présence d'anticorps anti-plaquettes et le stade et l'activité de la maladie, a été établie. Des anticorps anti-plaquettes ont aussi été mis en évidence chez des patients humains non thrombocytopéniques [4].

☞ De façon plus générale, **la quantité de complexes immuns a souvent une corrélation directe avec la taille de la tumeur et le stade clinique de la maladie** ; chez des patients humains atteints par une affection tumorale, des concentrations faibles d'immun-complexes dans la circulation au moment du diagnostic, ont été associées avec une réponse favorable au traitement [34, 84].

Remarque : les granules α contiennent des Ig G [99]

Les granules α des plaquettes contiennent de manière physiologique environ 5 fg d'Ig G par plaquette soit **l'équivalent de 20 000 molécules d'Ig G par plaquette**. C'est approximativement 200 fois la quantité d'Ig G mesuré en temps normal à la surface plaquettaire.

Ces Ig ont été acquises par **endocytose** par le mégacaryocyte (comme l'albumine ; le fibrinogène peut être endocyté par le mégacaryocyte et la plaquette) et **sont le reflet de la quantité d'Ig plasmatiques circulantes**. Le reste des protéines des granules α est le résultat d'une synthèse endogène par le mégacaryocyte (Cf. Tab VIII page 77).

Protéine	Site de synthèse	Contenu plaquettaire (mg/mL)	Contenu plasmatique (mg/mL)	Ratio: Plaquette/plasma
I. Endocytose de phase fluide				
Ig G	Lymphocyte B	0,52	11,3	0,05
Ig A	Lymphocyte B	0,05	2,2	0,02
Ig M*	Lymphocyte B*	1,0*	18,8*	0,05
Albumine	Foie	2,53	42,8	0,06
α 1-antitrypsine	Foie	0,08	1,3	0,05
α 2-antiplasmine	Foie	0,006	0,07	0,09
II. Endocytose avec récepteurs				
Fibronectine	Diverses cellules \square	0,19	0,30	0,63
Kininogène \pounds	Endothélium	0,06	0,08	0,75
Fibrinogène	Foie	7,3	3,0	2,43
III. Synthèse mégacaryocytaire				
Facteur von Willebrand	MégaK, endothélium	0,5	0,01	50
Facteur de coagulation V	MégaK, f oie	0,45	0,007	64
Thrombospondine	MégaK, plaquettes, diverses cellules \S	6,25	$1,3 \times 10^{-4}$	48 000
β -thromboglobuline	MégaK, plaquettes	4,8	$1,8 \times 10^{-5}$	260 000
Facteur plaquettaire 4	MégaK, plaquettes	3,3	$1,2 \times 10^{-6}$	280 000

*Patients à myélome multiple car Ig M non mesurables chez sujets normaux

\pounds Kininogène à haut poids moléculaire

\square cellules de l'endothélium vasculaire, fibroblastes, cellules musculaires lisses, cellules de l'épithélium intestinale, cellules de Schwann, macrophages et autres

\S cellules de l'endothélium vasculaire, cellules musculaires lisses, cellules gliales, fibroblastes, pneumocytes II.

Tab. VIII : Protéines des granules α plaquettaires : proposition des mécanismes d'acquisition suggérés par leurs concentrations relatives dans les plaquettes et le plasma [99].

☞ Cette concentration en Ig G des granules α est augmentée par stimulation de la thrombopoïèse lors de destruction plaquettaire périphérique et non lors de défaillance de la moelle osseuse. Cette mesure pourrait donc servir à faire la distinction entre défaut de synthèse ou destruction périphérique.

On ignore si le transport des Ig plasmatiques dans les granules de sécrétion revêt une fonction spéciale dans le mégacaryocyte ou la plaquette.

1.2.1.4. Traitements

Le traitement spécifique de la tumeur (comme la chirurgie ou l'irradiation) peut suffire la plupart du temps, à résoudre la thrombocytopénie ; la destruction plaquettaire à médiation immune est alors considérée comme un syndrome paranéoplasique [68].

Toutefois, quand la thrombocytopénie est sévère ($< 50\ 000/\mu\text{L}$), il est préférable d'effectuer également une **thérapie immunosuppressive**, en utilisant en première intention la *prednisone* ou *prednisolone* (2 à 4 mg/ kg/ j/ PO en 2 prises quotidiennes). Quelques auteurs préfèrent la *dexaméthasone*. Le *cyclophosphamide* peut être additionné (50 mg/ m²/ j/ PO en 1 prise quotidienne pendant 4 j) si l'on n'a pas obtenu de réponse après une semaine. La *vincristine* (0,5 mg/ m²/ IV) peut être utilisée à la place du cyclophosphamide. Dans tous les cas, le traitement à base de corticoïdes doit être poursuivi [39].

Dans les cas de thrombocytopénie à médiation immune sévère, associée à une tumeur et réfractaire aux traitements précédents, une **splénectomie** doit être pratiquée. Notons que *la taille de la rate n'est pas nécessairement en corrélation avec la présence d'une destruction plaquettaire à médiation immune dans cet organe*. La splénectomie d'une rate de taille normale a permis la résolution de thrombocytopénie à médiation immune associée à une tumeur, dans un certain nombre de cas [39].

👉 La quantification des immunoglobulines Ig G associées aux plaquettes peut apporter une aide à l'évaluation de la réponse des patients à une possible splénectomie. En effet, les cellules fortement chargées en anticorps sont phagocytées dans le foie ; donc, des patients présentant des plaquettes hautement sensibilisées répondront vraisemblablement mal à la splénectomie [21].

Conclusion :

Très peu d'études ont finalement étudié la thrombocytopénie à médiation immune associée aux tumeurs, en utilisant les outils diagnostiques de façon croisée.

La thrombocytopénie à médiation immune reste donc aujourd'hui sous-diagnostiquée. On pourrait espérer qu'à l'avenir, la recherche des anticorps anti-plaquettaires soit effectuée plus fréquemment en médecine vétérinaire, car son importance dans les désordres plaquettaires lors de néoplasie est loin d'être négligeable.

1.2.2. Augmentation du turn-over plaquettaire

Chez l'Homme comme chez le chien, il a été montré l'existence d'une augmentation du turnover plaquettaire et de celui du fibrinogène, directement corrélée à l'extension et à la nature histologique de la tumeur. Une étude chez le chien [109], par marquage des plaquettes au chrome 51, a permis d'obtenir les résultats suivants :

Diagnostic	Nombre de chiens	Plaquettes	
		Numération Plaquettaire ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Temps de demi-vie (jours)
Normal	41	334 \pm 23	5,4 \pm 0,1
Tumeur (toutes)	53	241 \pm 15	3,5 \pm 0,2
Sarcome	14	281 \pm 22	3,7 \pm 0,4
Lymphome	14	220 \pm 26	3,2 \pm 0,4
Adénocarcinome	9	190 \pm 22	3,1 \pm 0,4

Tab. IX : Numération et survie plaquettaire chez des chiens présentant un processus néoplasique ($P < 0,05$).

Une réduction du temps de survie plaquettaire survient chez 40% des chiens ayant développé des tumeurs localisées et 80% des chiens présentant des tumeurs métastatiques [109]. Le temps de demi-vie plaquettaire lors de tumeurs métastasées est significativement ($p < 0,05$) plus court ($3,2j \pm 0,3$) que celui évalué lors de tumeurs locales ($4,4j \pm 0,2$). Le temps moyen de survie plaquettaire est évalué à $5,4j \pm 0,1$ chez les chiens normaux contre $3,5j \pm 0,2$ chez les chiens ayant développé une tumeur. La diminution du temps de survie plaquettaire est plus prononcée chez les chiens présentant un adénocarcinome métastatique ou un lymphome avancé (Cf. Tab. IX page 79).

Tumeur

Extension de la
maladie

Plaquettes

biochimiques cruciales. L'utilité clinique de tels composés n'a pas été encore démontrée mais reste intéressante pour l'avenir.

Conclusion :

Plus que la numération plaquettaire, le turn-over plaquettaire est directement corrélé à l'extension et au type histologique de la tumeur [109].

☞ **La mesure du turn-over plaquettaire pourrait donc être envisagée à des fins pronostiques.**

1.2.3. Microangiopathie

Des changements pathologiques de la microcirculation peuvent entraîner une thrombocytopénie et une anémie par fragmentation des plaquettes et globules rouges [24, 39, 126]. Ce syndrome, connu sous le nom d'anémie et thrombopénie microangiopathiques, est présent le plus souvent chez des patients atteints d'une tumeur.

1.2.3.1.Mécanismes

La principale cause est un cisaillement des érythrocytes et plaquettes lors de leur passage dans des petits vaisseaux anormaux, à dépôts de fibrine erratiques, de tumeurs volumineuses, comme les hémangiosarcomes, les tumeurs hépatiques ou toute autre tumeur à lit vasculaire tortueux.

Chez l'Homme, la majorité des cancers associés à l'anémie hémolytique microangiopathique (AHMA) et à la coagulopathie sont des adénocarcinomes sécréteurs de mucine ou des tumeurs ayant des propriétés procoagulantes attribuées à la mucine [39]. Chez le chien, un tel syndrome a été décrit chez des patients présentant de grosses tumeurs ou des tumeurs infiltrant la moelle osseuse, la rate ou le foie (comme les hémangiosarcomes, lymphosarcomes ou leucémies).

Les plaquettes peuvent alors être détruites par abrasion ou bien être activées, et consommées subséquemment, par l'exposition de facteurs tissulaires quand l'intégrité de l'endothélium se voit interrompue par des agrégats cellulaires tumoraux [24].

Remarquons que les plaquettes des patients cancéreux peuvent se trouver dans un état déjà partiellement activé [15] (Cf. Chap. 2-3.2. page 110), accroissant le risque de thrombus et de formation de fibrine. L'activation plaquettaire peut alors jouer un rôle dans le développement d'une

coagulation intravasculaire localisée et disséminée, contribuant ainsi à accentuer la thrombopénie par consommation des plaquettes (Cf. Chap. 2-1.3.1. page 83).

Une étude prospective de 24 chiens affectés par des hémangiosarcomes à localisations variées, rapporte que [63] :

- la thrombocytopénie est l'anomalie hématologique la plus commune (75% des chiens)
- environ 50% des chiens présentent une AHMA dans le cadre d'une CIVD
- 12% des chiens présentent une AHMA sans CIVD

L'AHMA est définie dans cette étude, par la présence de schizocytes sur le frottis sanguin. La CIVD est définie par : (1) une thrombocytopénie, (2) des produits de dégradation de la fibrine >10 µg/mL, (3) une prolongation de un ou plus des temps de coagulation (APTT, PT) de plus de 25% par rapport au contrôle, (4) une fragmentation des globules rouges (AHMA) et (5) un fibrinogène <80 mg/dL (Cf. Chap. 2-1.3.1. page 83).

Bien que la CIVD soit une complication fréquente de l'hémangiosarcome, **l'anémie et la thrombocytopénie microangiopathique représentent donc un syndrome à part entière.**

1.2.3.2. Diagnostic et traitement

L'anémie hémolytique microangiopathique est bien diagnostiquée par un simple frottis sanguin qui montre des globules rouges fragmentés comme les schizocytes ainsi qu'une anémie et thrombocytopénie.

Des anomalies de coagulation compatibles avec une CIVD supportent l'hypothèse d'une AHMA mais ne sont pas obligatoirement nécessaires.

Ce syndrome ne connaît pas de traitement spécifique, autre que celui de la tumeur sous-jacente. La thérapie à l'héparine est réservée pour les cas de AHMA associés à une CIVD avérée.

1.3. Excès de consommation

1.3.1. La coagulation intravasculaire disséminée (CIVD)

Bien que beaucoup d'attention soit actuellement portée à l'étude de l'interaction directe cellule tumorale / plaquette et de son rôle dans le processus métastatique, la coagulation intravasculaire disséminée, toutes origines confondues, reste **la cause la plus commune de consommation plaquettaire lors de cancer**, spécialement lors de tumeurs hématopoïétiques, lymphoréticulaires et de nombreuses tumeurs malignes disséminées, particulièrement les carcinomes [38, 60, 63, 69]. Lors de CIVD, la délicate balance entre les systèmes de coagulation et de fibrinolyse est perturbée. Le terme de "syndrome de coagulation et fibrinolyse intravasculaire" (CFI) a même été proposé à la place de celui de CIVD [39].

1.3.1.1. La CIVD : définition, diagnostic et épidémiologie

La littérature la plus récente [63] définit la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) comme un syndrome clinique de thrombose et hémorragie, dans lequel au moins trois des cinq critères suivants sont rencontrés :

- thrombocytopénie ($<150\ 000/\ \mu\text{L}$)
- augmentation du temps de thromboplastine partiellement activée (TTPA) et/ou du taux de prothrombine (augmentation de plus de 25% par rapport au contrôle)
- diminution de la concentration en fibrinogène ($\leq 80\ \text{mg/dL}$)
- augmentation des produits de dégradation de la fibrine (PDF $> 10\ \mu\text{g/mL}$)
- présence de schizocytes dans le frottis sanguin (≥ 1 schizocytes par champ $\times 1000$)

Il n'existe donc pas d'examen biologique qui permette un diagnostic de certitude : une suspicion clinique de CIVD est donc confirmée par l'ensemble des symptômes et des résultats des examens de laboratoire précédents, auxquels il convient de rajouter le :

- dosage de l'antithrombine III

Synthétisée essentiellement dans le foie, l'antithrombine III neutralise *in vivo* surtout la thrombine, après activation par des molécules d'héparane-sulfate à la surface des cellules endothéliales. *In vitro*, elle neutralise toutes les sérines-protéases de la coagulation (sauf le VIIa). Un niveau d'antithrombine III circulant diminué est un élément diagnostique assez spécifique de la CIVD, pendant laquelle il y a surconsommation de ce facteur (son taux est aussi diminué lors

d'affection hépatique grave, de glomérulopathie, d'entérite exsudative ou d'un traitement par la L-asparaginase).

Une antithrombine III inférieure à 50% de la norme constitue un élément négatif pour le pronostic [57, 80].

L'existence d'une **tumeur maligne** est la cause la plus commune de CIVD chez le chien [45, 110]. Dans une étude de 41 chiens à CIVD, une tumeur maligne sous-jacente était présente chez 16 chiens (39%).

Dans une étude concernant 214 chiens cancéreux [60], les prévalences de CIVD, chez les chiens thrombocytopéniques, furent les suivantes :

Type tumoral	CIVD %
Sarcome	57
Carcinome	19
Endocrine	50
Hématopoïétique (non lymphoïde)	40
Bénin	0
Non classé	67
Multiple	33
Lymphoïde	22
Hémangiosarcome	90

Tab. XI : Prévalence de la CIVD lors de différents processus cancéreux

La prévalence de la CIVD est particulièrement forte chez les chiens ayant développé un hémangiosarcome, avec 50% [63, Cf. Tab. XII page 85] à 90% [60] des chiens affectés. La CIVD a même été documentée chez des chiens présentant des tumeurs cérébrales [60].

Site de la tumeur	Plaquettes / μ L	OSPT *	APTT *	PDF μ g/mL	Fibrinogène mg/dL	Globules rouges fragmentés	Devenir	Diagnostic
1 atrium droit	32 000	56	52	40	100	0	Euthanasié	CIVD
2 sous cutané, rein, foie	28 000	32	21	10-40	300	1+	Vivant	CIVD
3 foie	31 000	38	54	10-40	200	2+	Euthanasié	CIVD
4 rate	148 000	0	8	négatif	200	NE	Vivant	Thrombopénie
5 sous-cutané	349 000	-9	7	négatif	400	0	Vivant	Normal
6 foie	45 000	6	138	négatif	100	0	Mort en CIVD	Thrombopénie
7 omentum	344 000	21	-17	négatif	110	1+	Vivant	AHMA
8 sous-cutané	92 000	-5	4	négatif	200	0	Euthanasié	Thrombopénie
9 rate	75 000	25	76	40	600	2+	Euthanasié	CIVD
10 rate	28 000	21	242	10-40	200	1+	Mort en CIVD	CIVD
11 atrium droit	16 000	190	172	40	25	1+	Euthanasié	CIVD
12 rate	31 000	101	135	négatif	155	2+	Mort #	CIVD
13 rate	64 000	17	14	>40	94	NE	Vivant	Thrombopénie
14 rate	370 000	13	6	négatif	NE	2+	Euthanasié	AHMA
15 rate	430 000	-13	55	négatif	NE	0	Euthanasié	APTT prolongé
16 foie, atrium droit	45 500	20	40	>40	110	0	Mort en CIVD	CIVD
17 rate	140 000	-5	41	négatif	120	2+	Euthanasié	CIVD
18 foie, rate	43 000	10	106	10-40	100	NE	Mort en CIVD	CIVD
19 foie, atrium droit	133 000	-3	12	négatif	300	1+	Vivant	AHMA
20 sous-cutané	121 000	6	8	négatif	100	0	Vivant	Thrombopénie
21 rate	96 000	15	23	négatif	200	0	Vivant	Thrombopénie
22 sous-cutané, poumons	76 000	27	89	40	200	0	Mort en CIVD	CIVD
23 sous-cutané	332 000	4	3	négatif	200	0	Vivant	Normal
24 atrium droit, poumons	238 000	31	58	10-40	300	1+	Mort en CIVD	CIVD

Tab. XII : Anomalies hémostatiques chez des chiens présentant des hémangiosarcomes de localisations variées [63].

* %prolongation /contrôle

NE : non évalué

mort issue de causes non liées à des anomalies de l'hémostase

Cas particulier : la coagulation intravasculaire localisée (CIVL)

La coagulation intravasculaire localisée a été récemment décrite chez des chiens atteints hémangiosarcomes cutanés avec une prévalence de 50% [124] et pourrait ressembler au **syndrome de Kasabach-Merrit chez l'Homme** à large hémangiome caverneux. Ce syndrome est caractérisé par :

- une séquestration tumorale et un épuisement des plaquettes et du fibrinogène [153]
- une consommation des facteurs de coagulation et une augmentation en conséquence des temps de coagulation
- une hémolyse microangiopathique induite par des plages de fibrine et des thrombi intra-tumoraux [124, 152].

Les analyses de laboratoire ne permettent pas de différencier aisément ce syndrome de la CIVD. Les éléments de diagnostic différentiel peuvent se limiter à la présence de thrombi de fibrine localisés de façon restreinte à la tumeur, à la consommation préférentielle par la tumeur de plaquettes et fibrinogène marqués à l'indium [153] ou à la résolution des paramètres sanguins après résection chirurgicale de la masse tumorale ou occlusion de sa vascularisation [152].

1.3.1.2.Mécanismes

*Mécanismes de la CIVD

Tout dommage à l'endothélium vasculaire peut initier une CIVD, en entraînant :

- une *agrégation plaquettaire*
- une *activation de la voie extrinsèque* (ce qui est à l'origine d'un épuisement rapide du facteur VII) par exposition du facteur tissulaire (ou thromboplastine)
- ou une *activation de la voie intrinsèque* par activation du facteur XII par contact avec le collagène et autres substances.

Cette activation de la coagulation a pour conséquence la formation de microthrombi de plaquettes puis rapidement (en 24 h) de fibrine, à la travers la microcirculation (**CIVD compensée**), ce qui entraîne une ischémie pour les organes concernés et une anémie hémolytique

m

atteint [124] (l'incidence de la formation et de la distribution des thrombi chez le chien, n'est pas bien documentée, mais semble très inférieure à celle de l'Homme).

Il y a alors par ce phénomène consommation de plaquettes, de fibrine, de facteurs de la coagulation et secondairement activation du plasminogène en plasmine, qui peut non seulement lyser la fibrine mais aussi digérer les facteurs V et VIII ce qui réduira leur concentration future.

Les produits de dégradation de la fibrine (PDF) inhibent l'agrégation plaquettaire, la thrombine et la polymérisation de la fibrine. Un syndrome hémorragique peut alors se présenter (**CIVD décompensée**) par excès de consommation et inhibition des plaquettes et facteurs nécessaires à l'hémostase. La décompensation peut être aussi précipitée par divers stimuli tels qu'une chirurgie, une radiothérapie ou une infection [39].

La nécrose cellulaire survenant souvent lors d'affection tumorale est à l'origine de la libération massive de *facteurs thromboplastiques* mais aussi de *protéases* lysant les facteurs de coagulation. Certains types tumoraux produisent aussi de manière spécifique des *facteurs* qui favorisent des phénomènes soit thrombotiques soit hémorragiques (exemple de la mucine de l'adénocarcinome mucineux, Cf. Chap. 2-1.3.1.3. page 88).

Des changements primitifs du fonctionnement plaquettaire peuvent jouer aussi un rôle dans le développement d'une CIVD : ainsi, il a été démontré chez des patients humains présentant des tumeurs de types variés, l'existence d'une activité plaquettaire exagérée conduisant à un état **d'hyperagrégabilité**, ceci en l'absence d'anomalies de la coagulation ou de la fibrinolyse [159] (Cf. Chap. 2-3.2. page 110). De plus, les concentrations plasmatiques de β -thromboglobuline, une protéine spécifiquement plaquettaire, sont conséquemment augmentées chez les patients cancéreux comparés aux contrôles, traduisant aussi l'activation plaquettaire chez le patient cancéreux.

Par ailleurs, les vaisseaux endommagés voient leur *capacité de synthèse des prostaglandines diminuée*, ce qui contribue encore à une agrégation plaquettaire excessive [32].

Enfin, d'autres circonstances peuvent être à l'origine d'une CIVD chez le patient cancéreux comme lors d'un **sepsis** avec phagocytose bactérienne, d'une pancréatite aiguë libérant des **protéases** dans la circulation sanguine (tumeur pancréatique ou de voisinage), d'une défaillance cardiaque avec **hypovolémie et ischémie tissulaire** étendue (lors d'hémangiosarcome de l'oreillette par exemple) etc....

*Mécanismes de la CIVL

Par des mécanismes semblables à la CIVD, la CIVL peut être causée par l'activation du système de coagulation en réponse à :

- une exposition du tissu sous-endothélial dans la tumeur
- une augmentation de l'expression par des cellules endothéliales malignes de facteurs tissulaires, activateurs du plasminogène ou autres procoagulants
- un flux sanguin turbulent et une hémolyse concomitante, de vaisseaux sanguins à morphologie aberrante et tortueuse [10, 124, 152].

Remarque :

Les trois facteurs suivants, stase vasculaire, lésion vasculaire, hypercoagulabilité, forment la **"triade de Virchow"**, constituant la base commune de tous les syndromes d'hypercoagulabilité.

1.3.1.3.CIVD : clinique et conséquences

La CIVD se manifeste par des signes cliniques divers et variés, selon que l'animal soit en phase chronique ou aiguë, compensée ou décompensée.

Elle peut se présenter comme un désordre chronique de la coagulation (les taux de plaquettes et de fibrinogène peuvent alors être normaux ou bien élevés s'il y a sur-compensation), une diathèse hémorragique aiguë (se manifestant par des pétéchies, des suffusions, des ecchymoses, des hématomes, des saignements muqueux, de l'épistaxis, du méléna ou de l'hématurie) ou bien une découverte accidentelle de laboratoire d'anomalies de la coagulation.

Des complications sérieuses peuvent survenir comme une insuffisance rénale oligurique par thrombo-embolie, un sepsis, des syndromes neurologiques et des hémorragies pulmonaires [126].

La présence ou absence de la CIVD est importante pour le pronostic de la maladie. Sa contribution à la morbidité et la mortalité du patient est conséquente.

☞ Ainsi, le diagnostic et le traitement précoces de la CIVD sont une priorité.



Syndrome thrombotique

La CIVD compensée avec thrombose est plus commune chez les patients humains souffrant d'*adénocarcinomes sécréteurs de mucine*. La mucine contient une fraction d'acide sialique qui active le facteur X (de manière non enzymatique) [119, 120]. On rencontre également la CIVD compensée dans le *carcinome pancréatique*, cette tumeur sécrétant systématiquement de la **trypsine**, un activateur puissant de la CIV. Des thromboses sont alors retrouvées chez plus de 50% de ces patients [7, 8, 9]. Les *carcinomes pulmonaires et gastro-intestinaux* sont aussi fréquemment source de thrombose.

Malgré tout, l'incidence de la thrombose toutes tumeurs confondues n'est que de 15% [7, 8, 9].

Le phénomène de thrombose reste peu commun chez les chiens cancéreux [110].

◆ Syndrome hémorragique

Chez l'Homme, la CIVD à hémorragie aiguë est le plus fréquemment observée lors de *cancer de la prostate et de leucémie aiguë promyélocytaire*. Chez 40% des patients atteints de leucémie aiguë, l'hémorragie est la première cause de mortalité ; **une consommation excessive de plaquettes** avec thrombopénie secondaire est le facteur de risque sous-jacent le plus commun [9, 28]. Dans ce syndrome, l'hémorragie peut aussi être déclenchée par **une fibrinolyse excessive, souvent accompagnée d'un défaut de la fonction plaquettaire** se traduisant par un relargage anormal du facteur plaquettaire 3 et d'une diminution de la réponse d'agrégation à la thrombine, ADP, adrénaline et collagène [11, 90, 91].

L'adénocarcinome pancréatique peut à la fois activer indépendamment le système de la fibrinolyse et le système de la coagulation (qui finit par activer le système de la fibrinolyse).

En médecine vétérinaire, l'état hémorragique est rencontré lors de tumeurs variées incluant le *carcinome de la thyroïde, les carcinomes mammaires inflammatoires et surtout les hémangiosarcomes* [110]. Au contraire de l'Homme, la CIVD est peu commune chez le chien atteint de leucémie.

☞ Une hémorragie, dans le cadre d'un syndrome CIVD, peut donc résulter de (et/ou) :

- une fibrinolyse exubérante
- une thrombocytopénie de consommation
- un dysfonctionnement plaquettaire (Cf. Chap. 2-3 page 91)

1.3.1.4.Traitement

Le traitement primitif est dirigé contre la cause de la CIVD. Bien que parfois difficile dans le cas de cancers, les traitements anti-cancéreux (exérèse chirurgicale, chimiothérapie, radiothérapie, etc...) doivent être entrepris rapidement après le début du traitement spécifique de la CIVD.

Le traitement spécifique de la CIVD vise à stopper la progression de la coagulopathie de consommation, restituer les différents composants du système de coagulation (facteurs de coagulation, plaquettes et protéines anti-coagulantes comme l'anti-thrombine III) et corriger l'anémie.

Les traitements de soutien, dont la thérapeutique liquidienne, sont essentiels à la survie de l'animal atteint de CIVD aiguë. *La perfusion de solutés isotoniques voire hypertoniques ou de colloïdes* en cas de choc sévère, permet de rétablir le volume circulant, d'éviter les micro-obstructions induites par les thrombi et la stase veineuse, de corriger la déshydratation, l'acidose métabolique (mauvaise perfusion et oxygénation tissulaire) et de diluer les facteurs de coagulation [49, 80] D'autres traitements palliatifs peuvent être nécessaire comme une *oxygénothérapie* en cas d'anémie sévère ou de thrombo-embolie pulmonaire, *un contrôle de la température corporelle, une antibiothérapie...*

Une transfusion de sang frais est réalisée afin de remplacer les facteurs de coagulation, l'anti-thrombine III, les cellules et plaquettes déficients. Le sang réfrigéré (qui se conserve 21 jours à +4°C) ou cryoprécipité (qui se conserve 1 an à - 20°C) n'est pas utilisable car la conservation inactive les facteurs de coagulation (V et VIII) et les plaquettes (et les leucocytes) n'ont une durée de vie que de quelques heures. De plus, la durée de vie post-transfusion des hématies diminue proportionnellement au temps de conservation du prélèvement [131]. Des transfusions répétées peuvent être nécessaires.

☞ L'utilisation de sang total ou de plasma frais est obligatoire.

5 à 10 mL/kg/h, pour un animal normovolémique

jusqu'à 20 mL/kg/h, pour un animal hypovolémique [82]

Des vomissements peuvent apparaître si la vitesse de transfusion est trop élevée ; il faut alors réduire la vitesse de transfusion.

L'héparine est administrée pour arrêter la coagulopathie de consommation.

L'utilisation d'héparine dans la gestion du stade hémorragique de la CIVD est controversée, dans la mesure où l'utilisation d'un anticoagulant dans un système déjà de coagulopathie, pourrait amplifier un phénomène hémorragique. Pourtant, la restitution des facteurs de coagulation et des plaquettes par une transfusion de sang frais, correspond à un apport de procoagulants, pouvant perpétuer le processus initial de thrombose. L'héparine vient alors inhiber ou réduire ce phénomène de thrombose post-transfusionnel.

Lorsqu'une CIVL est fortement suspectée, l'héparine n'est plus indiquée, étant donné que la thrombose reste localisée à la lésion primaire. Chez les patients humains, la CIVL associée aux hémangiomes caverneux est traitée en retirant la lésion ou en occluant sa circulation.

Plusieurs protocoles d'administration ont été proposés, dont la mini-dose (5-10 UI/kg/8 h) ou la low-dose (75-200 UI/kg/8 h) lors de symptômes légers, et la dose intermédiaire (300-500 UI/kg/8 h) ou la dose forte (750-1000 UI/kg/8h) lors de manifestations thrombo-emboliques ou hémorragiques graves. *L'utilisation de doses peu élevées d'héparine (<150 UI/ kg)* présente l'avantage de ne pas augmenter de façon significative les temps de coagulation, permettant d'apprécier l'amélioration de la CIVD par la normalisation des examens biologiques [137]. Chez l'Homme, il a été démontré que l'utilisation de minidoses d'héparine est aussi efficace dans le traitement des CIVD aiguës que les doses traditionnellement plus élevées [80]. On pourra utiliser finalement [50, 107] :

5 à 10 UI héparine/ kg/ 8 h 100 à 200 UI/ kg/ 8 h si aucune amélioration

La voie d'administration préférentielle est la voie sous-cutanée ou éventuellement intraveineuse. L'héparine peut également être introduite dans le sang total ou plasma trente minutes avant la transfusion, afin de permettre la formation des complexes actifs d'anti-thrombine III/héparine *ex vivo*.

En effet, l'activité anticoagulante de l'héparine dépend de la présence **d'antithrombine III**, une α_2 -globuline aux effets anti-thrombiques locaux. L' antithrombine III agit *in vitro* en inactivant les facteurs de la coagulation IIa, IXa, Xa, XIa et XIIa, la plasmine, la kallikréine (facteur de contact), l'urokinase (activateur du plasminogène) et la trypsine. *In vivo*, elle neutralise surtout la thrombine, après activation par des molécules d'héparane-sulfate à la surface des cellules endothéliales. En se liant à l' antithrombine III et en entraînant un changement

conformationnel de cette molécule, l'héparine augmente nettement (d'un facteur 10 000) la vitesse de neutralisation des sérines protéases par l'antithrombine III (particulièrement pour les facteurs IIa et Xa). L'héparine est totalement inefficace lorsque la mesure de l'antithrombine III de l'animal est inférieure à 40% de la norme [45].

Ainsi, *l'infusion de concentrés d'antithrombine III* (Aclotine®) avec l'héparine a été proposée chez les patients humains (doses variant de 30-50 UI/kg voire 100 UI/kg), dont la CIVD n'avait pas rétrocedé à l'administration d'héparine seule. L'utilisation de concentrés d'antithrombine III chez l'animal reste expérimentale. L'apport d'antithrombine III se fait alors *par la transfusion de sang frais ou de plasma frais ou congelé* (l'antithrombine III y est stable pendant un an). Le sang frais est préféré pour l'apport de plaquettes, globules rouges et facteurs de la coagulation.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens en particulier **l'acide acétylsalicylique (AAS)** (Aspirine®) ont été proposés dans le traitement de la CIVD. L'AAS est un inhibiteur de la cyclooxygénase. Dans les plaquettes, l'AAS inhibe donc la production d'agents agrégants comme le thromboxane A2 et les prostaglandines PGG2 et PGH2 par les plaquettes. A dose faible, elle n'affecterait pas de façon significative la synthèse de la prostaglandine PGI2 des cellules endothéliales, inhibiteur puissant de l'agrégation plaquettaire (Cf. Chap. 2-3.4.1.2. page 120). Certains auteurs proposent ainsi chez le chien, la posologie de 5 à 10 mg/kg matin et soir [107].

Pourtant aucune étude spécifique n'a démontré son intérêt chez les animaux de compagnie et *aujourd'hui, l'AAS n'est pas recommandé dans le traitement des CIVD humaines*. Ses indications chez l'Homme et l'animal sont la prévention des phénomènes thrombo-emboliques (prévention des thromboses coronaires, de l'athérosclérose, etc. chez l'Homme, traitement et prévention des thrombo-embolies des chats cardiopathes, chiens atteints de syndrome néphrotique, de dirofilariose).

☞ L'AAS est donc dans le cadre de la CIVD, à utiliser de manière empirique et prudente à cause de ses effets secondaires potentiels (ulcérations gastro-intestinales et insuffisance rénale).

De rares rapports concernant l'utilisation de **glucocorticoïdes** ont été publiés [124]. L'effet bénéfique serait attribué à leur action contre l'endotoxination ou le choc, si ceux-ci jouent un rôle dans la pathogénie de la CIVD.

☞ Mais l'emploi des anti-inflammatoires stéroïdiens reste en général, *non recommandé* dans le traitement de la CIVD car ils diminuent l'activité des phagocytes mononucléés et potentialisent l'effet vasoconstricteur des catécholamines [80].

1.3.2. Hémorragie associée à la tumeur

L'hémorragie autre que celle associée à une coagulopathie de consommation (CIVD), est un mécanisme prédisposant également les animaux cancéreux à l'apparition d'une thrombocytopénie [69, 110].

Des pertes sanguines peuvent survenir lors de :

- endothélialisation aberrante (comme lors d'hémangiosarcome)
- fuite sanguine chronique de la surface tumorale
- infiltration tumorale de la vascularisation.

Dans ces cas, quand la moelle osseuse fonctionne normalement, cette thrombocytopénie périphérique reste modérée ou bien passe inaperçue. Une hémorragie chronique significative peut être à l'origine d'une thrombocytopénie quand les capacités compensatrices de la moelle osseuse sont dépassées.

La thrombocytopénie résultant d'hémorragie aiguë ou sévère, peut être modérée à sévère, (surtout si un processus de consommation existe de façon concomitante) et peut survenir lors de rupture tumorale à l'origine d'une hémorragie interne (hémangiosarcome par exemple) ou lors de pertes sanguines externes (mastocytome, carcinome cutané).

Une hémorragie persistante, chronique, peut aussi survenir lors de dysfonctionnement plaquettaire [110] (Cf. Chap. 2-3 page 101).

1.4. Séquestration plaquettaire

1.4.1. Splénomégalie et hépatomégalie

Approximativement un tiers de la quantité totale des plaquettes est stocké dans la rate [69, 44]. Ainsi n'importe quelle situation qui augmente le volume sanguin de la rate, résulte en une augmentation de la quantité de plaquettes séquestrées. Des tumeurs infiltratives de la rate causant un hypersplénisme peuvent prédisposer à une thrombocytopénie par ce mécanisme : on peut citer comme exemple des hémangiosarcomes [63, 93], hémangiomes [78, 142], lymphomes [109, 69], mastocytomes félines [69] et de variétés d'autres tumeurs.

L'hépatomégalie causée par de larges tumeurs vascularisées peut aussi prédisposer à la séquestration plaquettaire ainsi que finalement n'importe quelle grosse tumeur vasculaire à localisation autre que splénique ou hépatique.

La splénectomie a pour conséquence une élévation de la numération plaquettaire [69].

1.4.2. Séquestration plaquettaire et thrombopoïèse ;

rôle de la thrombopoïétine

Alors que les thrombocytopénies causées par destruction, consommation ou hémorragie induisent une augmentation de la thrombopoïèse de la moelle osseuse et le relargage de plaquettes "de stress" (de grandes plaquettes), la thrombocytopénie par séquestration plaquettaire ne suscite pas, la plupart du temps, le même type de réponse. Ceci semble refléter l'influence de la *thrombopoïétine* (cytokine produite par les reins et le foie, exerçant son effet hématopoïétique sur les progéniteurs mégacaryocytaires) sur la production plaquettaire.

Bien que controversées, plusieurs publications émettent l'hypothèse que la thrombopoïétine voit son taux régulé par l'occupation de certains récepteurs sur les mégacaryocytes et plaquettes [74, 86] ; si la concentration totale en cellules porteuses de ces récepteurs (cellules en circulation ou bien séquestrées) est suffisante, la totalité de la thrombopoïétine est liée à ces récepteurs et est incapable de stimuler les précurseurs de la moelle osseuse. Quand la concentration totale en plaquettes est diminuée (destruction, consommation ou hémorragie), une certaine quantité de thrombopoïétine est libre et stimule les précurseurs mégacaryocytaires.

► Thrombopoïétine et perspective de traitement des thrombopénies

La thrombopoïétine connaît *in vivo* des effets fortement hématopoïétiques et peu voire pas d'action sur le fonctionnement plaquettaire en lui-même [113] (Cf. Fig. 13 page 95). Elle augmente le nombre et la taille des colonies de mégacaryocytes en favorisant la maturation du cytoplasme et l'endoréplication. Son récepteur a été identifié sous le nom de récepteur c-mpl et se situe sur les cellules progénitrices mégacaryocytaires [160].

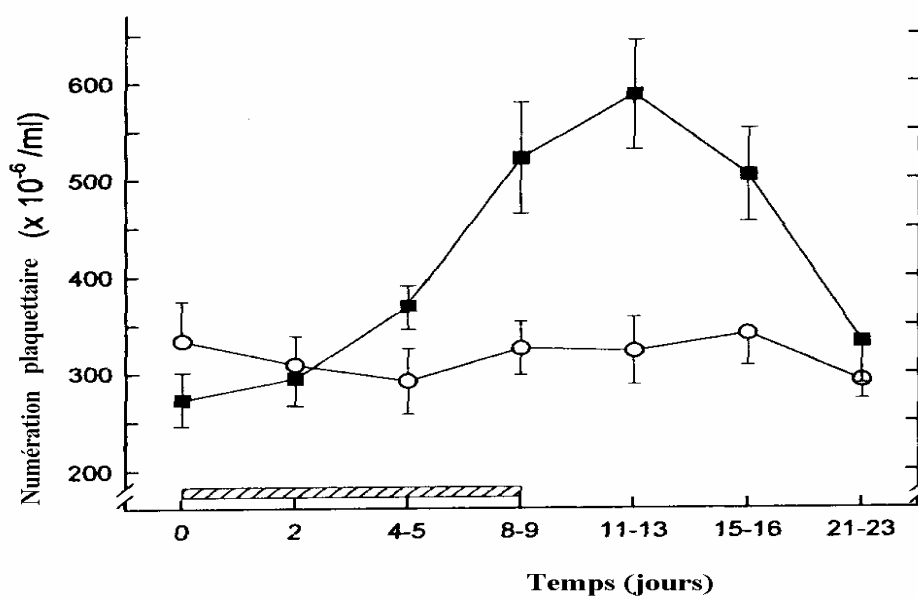


Fig. 13 : Numération plaquettaire du sang périphérique après administration de thrombopoïétine (■) (à 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$) et d'un témoin (○), du jour 0 au jour 9 (indiquée par la barre hachurée).

☞ Des études sont en cours de développement afin d'utiliser la thrombopoïétine dans le traitement adjuvant de certaines thrombocytopenies.

2. Thrombocytose

Bien que la thrombocytopénie soit le trouble plaquettaire le plus commun chez les patients cancéreux, il existe des situations où une thrombocytose peut être présente. Cette élévation de la numération plaquettaire concourt rarement à des manifestations cliniques de thrombose ou d'hémorragie.

La thrombocytose peut résulter directement du processus cancéreux, d'un syndrome paranéoplasique, d'un effet secondaire d'une chimiothérapie ou de mécanismes compensatoires.

Désordres myéloprolifératifs
Leucémie mégacaryoblastique (chien, chat, Homme)
Polycythemia vera (Homme)
Leucémie myélogène chronique (Homme)
Thrombocythémie (Homme)
Etats sur-compensatoires
CIVD
Chimiothérapie
Hémorragie tumorale
Alkaloïdes de la pervenche
Splénectomie
Déficiences en fer par saignement tumoral
Idiopathique

Tab. XIII : Conditions néoplasiques associées à une thrombocytose

2.1. Désordres myéloprolifératifs

Les désordres myéloprolifératifs forment un groupe hétérogène d'anomalies de la moelle osseuse, caractérisés par une production inappropriée de cellules sanguines.

Une augmentation de la numération plaquettaire est quelquefois une caractéristique de ces syndromes, particulièrement dans les maladies myéloprolifératives chroniques de l'Homme, comme la polycythemia vera, la leucémie myélogène chronique et la thrombocythémie. Chez le chien et le chat, il y a moins de cas rapportés de thrombocytose associée à des désordres myéloprolifératifs. Une numération plaquettaire de 1 000 000 / μL a été décrite chez un chien, vraisemblablement atteint d'une maladie myéloproliférative de la lignée mégacaryocytaire. Le cas d'un chien atteint d'une leucémie mégacaryoblastique à 620 000 plaquettes / μL a été rapporté

; dans une autre publication, un chien atteint de cette même leucémie était au contraire thrombocytopénique [65].

Des tendances hémorragiques ont été notées chez ces chiens thrombocytosiques, bien qu'un dysfonctionnement plaquettaire semble être à l'origine des troubles plutôt que la thrombocytose en elle-même [20].

Chez le chien et le chat, il a été suggéré d'utiliser en traitement des agents myélosuppresseifs comme *des agents alkylants* (chlorambucil, melphalan, busuflan, cyclophosphamide) ou du phosphore radioactif (P32) [69]

2.2. Thrombocytose idiopathique associée à une tumeur

La thrombocytose idiopathique est le plus souvent associée à la présence *de tumeurs solides*. Chez l'Homme, ce sont des carcinomes étendus qui ont été le plus souvent associés à une thrombocytose, bien qu'on l'ait également retrouvée associée à des sarcomes de tissus mous et des lymphosarcomes [69]. Chez le chien, on a relevé des numérations plaquettaires supérieures à 500 000 / μ L chez des animaux à ostéosarcomes, carcinomes gingivaux et carcinomes squameux métastatiques.

La cause exacte de cette thrombocytose associée à une tumeur, est comme son nom l'indique, inconnue. On pense que certaines tumeurs sécrèteraient *un facteur spécifique* qui stimulerait la production plaquettaire [69], en dépit d'une réduction moyenne à modérée du temps de survie plaquettaire chez ces individus.

Des tendances hémorragiques et thrombotiques ont été décrites avec ce type de thrombocytose mais elles restent *peu fréquentes*, indiquant que cette thrombocytose n'aurait la plupart du temps, pas de traduction clinique.

☞ Toutefois, cette thrombocytose peut être quelques fois détectée *avant* qu'un diagnostic histopathologique de tumeur ait été posé, accordant à cette anomalie de la formule sanguine une réelle signification clinique.

2.3. Effet sur-compensatoire d'une thrombocytopénie

La thrombocytopénie est un stimulus de la mégacaryocytopoïèse. Ceci a été démontré chez l'animal par induction expérimentale d'une thrombocytopénie par sérum anti-plaquettaire, remplacement du sang par transfusion d'un sang pauvre en plaquettes, irradiation ou agents myélosuppresseurs [69]. L'amplitude de la réponse mégacaryocytaire est proportionnelle au degré de la thrombocytopénie [108]. Après induction expérimentale d'une thrombocytopénie, une surproduction transitoire de plaquettes (et thrombocytose) a été observée dans de nombreuses études. Les plaquettes produites sont alors plus grandes que la normale.

Chez les patients souffrant d'une tumeur, il existe des situations qui peuvent évoquer une thrombocytose réactive : une CIVD chronique, une chimiothérapie et une hémorragie tumorale aiguë sont des situations où une réponse sur-compensatoire à la thrombocytopénie peut se développer. Des numérations plaquettaires supérieures à 1 000 000 / μ L ont été décrites chez l'Homme ayant subi une chimiothérapie (à la cytosine arabinoside et methotrexate). Une thrombocytose a été décrite chez les chiens rendus thrombocytopéniques après leur traitement à la cisplatine, dacarbazine (DTIC) et cytosine-arabinoside.

Le mécanisme évoqué pour la thrombocytose de compensation est celui d'une synchronisation des mégacaryocytes stimulés par la thrombocytopénie durant leur synthèse d'ADN. Ces mégacaryocytes ont ensuite une maturation plus rapide, une masse cytoplasmique augmentée et chaque mégacaryocyte donne naissance à un nombre supérieur de plaquettes [69].

2.4. Thrombocytose induite par les alcaloïdes de la pervenche

De faibles doses d'alcaloïdes de la pervenche tels que la vincristine (Oncovin®) et la vinblastine induisent une thrombocytose chez l'animal d'expérience et les patients cancéreux recevant ces agents chimiothérapeutiques. La thrombocytose ne suit pas une thrombocytopénie pré-existante et de ce fait ne peut pas être attribuée à un effet compensatoire. Cette propriété est bien connue et est utilisée en thérapeutique autre que la chimiothérapie, *pour traiter certaines thrombocytopénies, en particulier les thrombocytopénies auto-immunes* [58].

Les alcaloïdes de la pervenche stimulent la production plaquettaire dans la moelle osseuse presque immédiatement après administration, conduisant à une augmentation des précurseurs mégacaryocytaires avec un temps de maturation diminué. Les alcaloïdes de la pervenche stimuleraient également la production de plaquettes par les mégacaryocytes [69].

Les alcaloïdes de la pervenche exercent des réponses similaires chez les chiens et chats traités en routine par ces agents anti-cancéreux. La numération plaquettaire des chiens recevant de la vincristine excède souvent 400 000 / μ L.

L'action de ces agents se répercute également sur le fonctionnement plaquettaire (Cf. Chap. 2-3.1.5. page 108).

2.5. Splénectomie

Chez le chien, des numérations plaquettaires supérieures au million par microlitre ont été décrites après splénectomie, et bien que ces taux aient tendance à diminuer, ils restent tout de même élevés pendant des semaines ou années. Le retrait du réservoir splénique de plaquettes avec une augmentation de la masse plaquettaire intra-vasculaire est une cause de la thrombocytose post-splénectomie ; le retrait d'un facteur splénique qui inhiberait la thrombopoïèse, a également été évoqué [157].

Chez le chien, cette forme de thrombocytose est fréquemment rencontrée après une splénectomie sur tumeurs spléniques comme un hémangiosarcome ou lymphosarcome. Les chats sont plus souvent splénectomisés dans le traitement de mastocytoses viscérales et d'hémangiosarcomes, et développent alors aussi une thrombocytose.

Remarque : Les chiens splénectomisés pour une thrombocytopénie à médiation immune, ne manifestent habituellement pas de thrombocytose secondaire, vraisemblablement à cause d'une destruction immune des plaquettes, qui subsiste dans les autres organes.

2.6. Déficience en fer

Des pertes sanguines externes et chroniques entraînent une anémie ferriprive. Une thrombocytose est alors fréquemment associée chez l'Homme et l'animal, atteints d'anémie ferriprive.

Des saignements occultes de tumeurs peuvent produire un état déficitaire en fer et s'accompagner d'une thrombocytose. Chez le chien, des tumeurs de l'appareil gastro-intestinal comme les adénocarcinomes, fibrosarcomes et léiomyomes sont connues pour causer une anémie ferriprive. Une numération plaquettaire de 670 000/ μ L était présente chez un chien avec carcinome à cellules transitionnelles qui saignait ainsi qu'une anémie par déficience en fer [69].

Le mécanisme qui lie le déficit en fer et la thrombocytose, n'est que partiellement élucidé mais il a été suggéré que le fer jouerait un rôle régulateur inhibiteur de la thrombopoïèse [157].

3. Dysfonctionnement plaquettaire (thrombocytopathie)

Diverses thrombocytopathies ont été décrites chez les patients cancéreux. La signification clinique des troubles qualitatifs plaquettaires a pris une importance grandissante ces dernières années. Mais la physiopathologie de certains dysfonctionnements plaquettaires reste moyennement comprise, aussi bien en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine. Il n'est parfois pas possible d'établir une relation claire entre la présence de la tumeur et un fonctionnement plaquettaire anormal ; de plus un dysfonctionnement plaquettaire n'est pas toujours corrélé à la clinique ni aux examens biologiques.

L'incidence et la distribution des thrombocytopathies chez l'animal cancéreux ne sont pas connues.

3.1. Hypofonctionnement plaquettaire

3.1.1. Maladie acquise de Von Willebrand

La maladie de Von Willebrand est le plus souvent un désordre héréditaire (autosomal dominant chez le Berger Allemand, Dobermann, Pinscher, Golden Retriever, Schnauzer miniature, Scottish Terrier, Pembroke et Welsh Corgi) caractérisé par un défaut extrinsèque de l'adhésion plaquettaire. Le facteur plasmatique de Von Willebrand, sous-unité du facteur VIII de coagulation, fait défaut quantitativement ou qualitativement. Le facteur VIII -vW est essentiel à la GP I plaquettaire pour lier le collagène. La clinique est celle d'une tendance hémorragique modérée chez les individus hétérozygotes.

Mais cette maladie peut aussi être acquise : elle survient alors chez l'Homme atteint de myélome multiple, lymphome, macroglobulinémie et désordres myéloprolifératifs. Plusieurs hypothèses ont été émises quant à son mécanisme [53] :

- Inhibition du facteur de Von Willebrand par un inhibiteur plasmatique [104]
- Neutralisation par des anticorps anti-facteur Von Willebrand [42]
- Adsorption du facteur de Von Willebrand sur le tissu tumoral [127].

La maladie acquise de Von Willebrand n'a pas encore été décrite en médecine vétérinaire.

Remarque :

Le déficit en facteur Von Willebrand s'accompagne d'une baisse du taux du facteur VIIIc (anti-hémophilique A) : en effet dans le sang, le facteur vW s'associe au facteur VIIIc pour former un complexe, fixé à la surface des plaquettes activées, le protégeant ainsi d'une inactivation trop rapide.

Dans l'hémostase primaire, le complexe VIII-vW est essentiel à la Gp I plaquettaire pour lier le collagène. Le facteur VIII est indispensable dans l'hémostase secondaire, où il rapproche le site enzymatique du facteur IXa de son substrat, le facteur X.

Chez l'Homme, il y a une bonne corrélation entre ce défaut et une clinique hémorragique, au moins chez les patients atteints de maladie myéloproliférative [110].

L'infusion de plasma frais ou de concentré de facteur VIII constitue le traitement de choix des épisodes hémorragiques, mais comme dans le cas d'une maladie de Von Willebrand héréditaire, cette thérapie n'entraîne pas une élévation prolongée dans le temps du facteur Von Willebrand. L'administration de desmopressine (Minirin®, analogue de la vasopressine, hormone anti-diurétique naturelle) est également préconisée car elle entraîne, à une dose de 0,3 à 0,4 µg/kg, une augmentation des concentrations plasmatiques du facteur VIII et du facteur Willebrand d'environ 3 à 4 fois leur taux de base, ainsi qu'une libération de l'activateur plasmatique du fibrinogène.

3.1.2. Dysprotéïnémie

Des défauts de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire ont été décrits lors d'états hyperglobulinémiques, comme lors de myélome multiple et de macroglobulinémie. Ces anomalies du fonctionnement plaquettaire surviennent dans approximativement un tiers des patients à myélome à Ig A ou macroglobulinémie de Waldenström, 15 % des patients à myélome à Ig G et de façon occasionnelle chez les patients souffrant d'une gammopathie monoclonale bénigne [53].

Les plaquettes sont recouvertes de paraprotéines de large poids moléculaire (Ig A et Ig M en général) avec pour conséquence une diminution de l'adhésion mais aussi une agrégation défectueuse et un facteur plaquettaire 3 inefficace. Ces anomalies ont pour conséquence la

formation d'un clou plaquettaire imparfait, entraînant des saignements et une augmentation des temps de coagulation. Dans une étude [135], un tiers des chiens atteints d'un syndrome d'hyperviscosité causé par un myélome multiple, a présenté une diathèse hémorragique.

Epistaxis, saignements gingivaux et gastro-intestinaux et hémorragie rétinienne sont les principaux signes cliniques rencontrés.

La cause de l'hémorragie est vraisemblablement multifactorielle, incluant :

- distension et rupture mécanique des petits vaisseaux, par les précipités de paraprotéines recouvrant les vaisseaux [92]
- *diminution de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire, résultant de l'adsorption de paraprotéines sur les membranes plaquettaires* [9, 69, 126, 135]
- *diminution de l'efficacité du facteur plaquettaire 3* [69]
- défaut de synthèse et de polymérisation de la fibrine [116]

Chez certains patients, les protéines tumorales peuvent affecter les plaquettes de façon spécifique : on a ainsi montré qu'une protéine d'un myélome à Ig G κ était capable de se lier à la glycoprotéine membranaire plaquettaire gp IIIa, causant une forme acquise de thrombasthénie [37].

On a également démontré que les paraprotéines pouvaient bloquer les récepteurs membranaires plaquettaires à l'ADP et inhiber ainsi en partie l'activation plaquettaire (cette propriété est d'ailleurs utilisée en thérapeutique : les dextrans -haut poids moléculaire- ont été recommandés dans la thérapie antiplaquettaire/ anticoagulante) [33].

Les anomalies plaquettaires de tels patients ont été résolues après plasmaphérèse et/ou chimiothérapie.

3.1.3. Désordres myéloprolifératifs et myélodysplasiques

Largement étudiés, des dysfonctionnements plaquettaires sont quasiment toujours présents lors de désordres myéloprolifératifs et myélodysplasiques. L'anomalie la plus fréquente est une agrégation plaquettaire inefficace ou absente, bien que de nombreuses autres anomalies aient été décrites chez l'Homme, incluant une morphologie anormale, une adhésion plaquettaire diminuée, une activité du facteur plaquettaire 3 réduite et une diminution des stocks des constituants plaquettaires normaux [129].

Le tableau ci-dessous fait état des principales anomalies morphologiques, biochimiques et métaboliques recensées, dont **la traduction clinique balance entre troubles hémorragiques et thrombotiques.**

-
- (A) Morphologie plaquettaire anormale
 - (B) Maladie acquise de stockage
 - (C) Anomalies membranaires plaquettaires
 - Anomalies des glycoprotéines
 - Anomalies des récepteurs
 - Récepteurs α -adrénergiques
 - Récepteurs aux prostaglandines D2
 - Récepteurs Fc
 - Défaut de libération de l'acide arachidonique
 - Activité de coagulation anormale
 - (D) Métabolisme de l'acide arachidonique anormal
-

Tab XIV : Anomalies plaquettaires qualitatives chez les patients présentant des désordres myéloprolifératifs [53, 129].

La morphologie anormale plaquettaire a déjà été évoquée au cours de l'exposé ; on retiendra la circulation d'une *population plaquettaire hétérogène* avec des petites plaquettes mais aussi des grandes plaquettes, observées de façon caractéristique chez les patients présentant des désordres myéloprolifératifs. *Cette distribution de taille peut d'ailleurs gêner les études d'agrégométrie.*

Les anomalies ultrastructurales incluent une désorganisation et une raréfaction des microtubules, une *diminution du nombre des granules de stockage* et une hypertrophie des systèmes tubulaire dense et canaliculaire ouvert.

Sur une étude de 8 patients atteints de leucémie myéloïde chronique, 7 ne présentèrent *pas de réponse d'agrégation* à l'adrénaline, en dépit d'une synthèse normale de thromboxane ; ces patients avaient de plus une concentration plaquettaire diminuée en ADP et sérotonine. L'étude microscopique électronique confirma la **diminution du nombre de granules denses plaquettaires** [129].

Une autre étude remarqua une diminution du taux de captage de la sérotonine, suggérant un **défaut dans le transport membranaire actif**.

Une variété **d'anomalies majeures dans la composition des glycoprotéines membranaires** plaquettaires ont été décrites chez les patients présentant des désordres

myéloprolifératifs mais *la plupart du temps, aucune corrélation n'a été établie avec la clinique.*

Par exemple, dans un cas de syndrome myélodysplasique juvénile, la déficience acquise du complexe membranaire plaquettaire gp Ib/IX a été rapportée, alors à l'origine d'une forme acquise de la maladie de Bernard-Soulier [5].

Deux patients à thrombocythémie essentielle présentèrent une *absence d'agrégation plaquettaire, en réponse à l'adrénaline*, mais une agrégation normale à l'ADP, collagène et thrombine. Des études de cinétique de la liaison récepteur plaquettaire α -adrénergique / radioligand révélèrent une cinétique normale : ces patients souffraient donc d'une perte des récepteurs plutôt que d'une diminution de l'affinité de ces récepteurs pour le ligand.

La fréquence élevée d'absence d'agrégation plaquettaire à l'adrénaline (Cf. Tab XV page 106) suggère que la **déficience en récepteurs α -adrénergiques** est une anomalie commune chez les patients à désordres myéloprolifératifs.

Agrégation plaquettaire (nombre de patients à anomalie/ nombre total patients)			Temps de saignement (prolongé)	Population de patients £	Référence
Adrénaline	Collagène	ADP			
11/18	7/18	9/18	1/6	DMP	
-	10/17	9/17	-	DMP	
25/28	5/28	6/28	-	DMP	
5/28	1/28	1/28	1/28	DMP	
6/12	-	-	3/12	DMP	
11/13	2/13	0/13	0/6	DMP	
13/18	7/19	11/19	3/11	DMP	
20/33	11/33	14/33	3/33	DMP	
16/21	13/21	10/21	7/21	DMP	
9/32	-	-	12/32 *	DMP	
38/43	37/43	21/43	-	DMP	
7/9	2/9	6/9	0/9	DMP	
15/52	9/52	19/52	5/52	DMP	
24/47	17/47	22/47	10/49	PCV	
8/9	-	5/9	-	TE	
208/363 (57%)	121/328 (37%)	133/337 (39%)	45/259 (17%)		

Tab. XV : Agrégation plaquettaire et temps de saignement chez les patients présentant des désordres myéloprolifératifs [129]

£ DMP : tous désordres myéloprolifératifs, PCV : polycythémie vraie, TE : thrombocythémie essentielle

*10 des 12 patients avaient une myélofibrose

✎ Chez le chien, des défauts de l'adhésion et de l'agrégation ont été observés lors de polycythémie [45]. Un chien atteint d'une leucémie mégacaryoblastique a présenté de multiples anomalies de la morphologie plaquettaire, conduisant à une agrégation anormale [20].

Les saignements suggérant ainsi une thrombocytopathie ; sont habituellement *mucocutanés* ; ils surviennent chez environ *un tiers des patients humains thrombocytopathiques* et contribuent à la mortalité dans 10% des cas.

Il semblerait que les anomalies de la fonction plaquettaire se résolvent avant les anomalies quantitatives quand le patient entre en rémission [69].

☞ On pourrait alors penser que, bien qu'encore très rarement dépistées en médecine vétérinaire, les anomalies plaquettaires qualitatives pourraient être un indicateur précoce d'une rechute éventuelle d'une maladie myéloproliférative.

☹ Lors de désordres myéloprolifératifs et myélodysplasiques, les patients peuvent aussi être atteints, dans le cadre d'une thrombopathie, de thromboses artérielles ou veineuses, ou bien d'une combinaison de phénomènes thrombotiques et hémorragiques (Cf. Chap. 2-3.2. page 110).

3.1.4. Dysfonctionnement plaquettaire à médiation immune [34]

La prévalence des dysfonctionnements plaquettaires à médiation immune n'est pas connue [53]. Chez la plupart des patients atteints, les numérations plaquettaires sont normales ou subnormales lors d'épisodes de saignement. *Des anticorps dirigés contre les glycoprotéines IIb/IIIa (récepteur du fibrinogène) ont été identifiés [34].*

Une étude indirecte d'agrégation (l'agrégation directe, testant les plaquettes du patient, nécessite une numération d'au moins 100 000 plaquettes/ μL) a démontré *l'inhibition de l'agrégation chez des chiens présentant thrombocytopénie à médiation immune*. L'inhibition de l'agrégation fut obtenue après addition de la fraction Ig G du sérum de chiens présentant une thrombocytopénie à médiation immune, à des plaquettes d'un donneur normal en présence de thrombine (Cf. Fig 14). La réponse d'agrégation est mesurée par l'intermédiaire d'une augmentation de la transmission de la lumière à travers la suspension (Cf. Chap. 2-3.3. page 116).

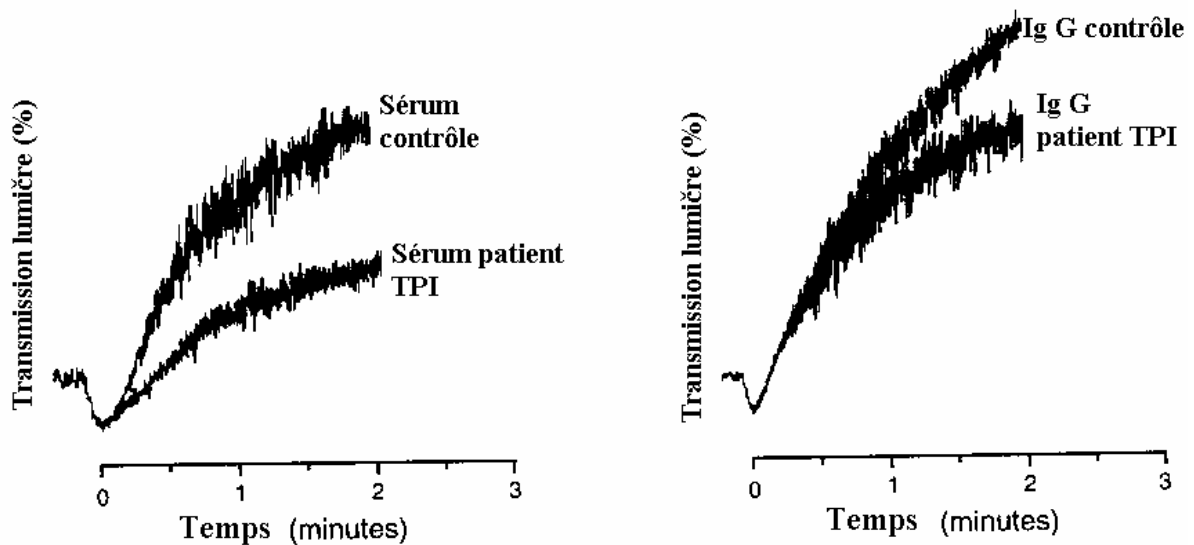


Fig. 14 : Réponse d'agrégation à la thrombine après addition de sérum et d'Ig G d'un chien présentant une thrombocytopénie à médiation immunitaire (TPI), à des plaquettes de chien sain. L'agrégation maximale est obtenue 2 minutes après l'initiation de la réaction [34].

Des anticorps dirigés contre la glycoprotéine Ib ont été aussi identifiés chez des patients humains à thrombocytopénie à médiation immunitaire.

Des dysfonctionnements plaquettaires peuvent donc contribuer à la sévérité de la diathèse hémorragique des patients présentant une thrombocytopénie à médiation immunitaire.

Remarque :

Le dysfonctionnement plaquettaire à médiation immunitaire ne se fait pas que dans le sens d'une inhibition de l'activité plaquettaire : chez l'Homme, des anticorps anti-plaquettaires ont été identifiés comme activant les plaquettes, aboutissant à leur agrégation et au relargage d'ATP.

3.1.5. Les alcaloïdes de la pervenche

De faibles doses de vincristine et vinblastine engendrent une thrombocytose ; des effets sur le fonctionnement plaquettaire ont été également montrés *in vitro* et *in vivo*.

Ces composés interviennent sur la formation des microtubules, en l'inhibant ou en la rendant anormale. Les microtubules des plaquettes sont affectés de façon similaire, bien que certains aspects de la fonction plaquettaire ne soient pas touchés, comme le développement de l'adhésivité, la formation de pseudopodes et la sécrétion des granules. Les plaquettes voient

tout de même leur morphologie modifiée. L'effet majeur inhibiteur des alcaloïdes de la pervenche sur la fonction plaquettaire est l'altération de l'agrégation plaquettaire [69].

Toutefois, l'altération de l'agrégation ne semble pas connaître de traduction clinique ; les temps de coagulation ne sont pas modifiés chez ces patients. Ceci peut être attribuable au fait que *in vivo* l'exposition du collagène initie le processus hémostatique et que *in vitro* l'agrégation des plaquettes traitées par la vincristine par le collagène, est préservée. Il n'en est pas de même avec d'autres agonistes de l'agrégation.

D'autres agents de chimiothérapie sont susceptibles de causer un défaut de l'agrégation plaquettaire[53,98] : ils sont décrits dans le tableau XVI ci-après.

Agents	Thrombocytopathie associée
Asparaginase, chimiothérapie combinée (cisplatine, cyclophosphamide et carmustine ou melphalan), vincristine	Agrégation plaquettaire défectueuse
Carmustine, daunorubicine	Agrégation plaquettaire défectueuse <i>in vitro</i>
Picamycine	Agrégation plaquettaire défectueuse ; saignements cliniques

Tab. XVI : Agents de chimiothérapie et thrombocytopathie

3.1.6. Autres cas

Des troubles du fonctionnement plaquettaire ont été décrits également lors de :

- **CIVD fulminante**, les plaquettes se trouvant recouvertes des produits de dégradation de la fibrine.
- **Anticoagulants héparine-like** élaborés par des tumeurs malignes, essentiellement les mastocytomes, qui inhibent la formation de thrombine (par facilitation de l'activité de l'anti-thrombine III) et atténuent indirectement l'activation plaquettaire. Les granules des mastocytes renferment en temps normal des facteurs héparine-like et les mastocytomes canins en contiennent de grandes quantités. Pourtant, les patients ont généralement des temps de coagulation normaux ; toutefois, des hémorragies locales peuvent survenir lors de chirurgie, d'aspiration à l'aiguille fine ou de manipulation excessive de la masse tumorale [126].
- **Insuffisances hépatique ou rénale** associées au processus tumoral à cause de l'ammoniémie et l'urémie. Les patients insuffisants rénaux ont une réponse biochimique nécessaire à l'agrégation et la dégranulation, défectueuse, comme le montrent une augmentation des taux cytoplasmiques de calcium libre [151], une diminution de la synthèse plaquettaire de thromboxane (donc augmentation de l'AMPc et inhibition de l'agrégation et de la dégranulation plaquettaire) [121] et une exposition des récepteurs au fibrinogène. L'activité procoagulante et l'adhésion au subendothélium *ex vivo* des plaquettes sont souvent anormales chez les patients urémiques.

La prolongation du temps de saignement et la sévérité de l'anémie sont corrélées avec la sévérité de l'insuffisance rénale. La correction de l'anémie par transfusion de globules

rouges lavés ou par traitement à l'érythropoïétine peut réduire le temps de saignement (jusqu'à la normale) et les symptômes de saignements [47].

3.2. Hyperfonctionnement plaquettaire

Des profils de coagulation réalisés chez un grand nombre de patients cancéreux humains ont indiqué que le système de coagulation connaissait souvent une activité augmentée [110]. Le **fibrinopeptide A**, un produit de dégradation de la fibrine qui est un marqueur sensible d'une faible activité de coagulation, voit **sa concentration augmentée** chez pratiquement tous les patients humains atteints d'une leucémie aiguë ou de tumeurs solides [110].

Chez les patients présentant des désordres myéloprolifératifs, les plaquettes, à l'état basal et activé, forment plus de thrombine que les témoins (même après correction des variations de taille) [87].

🐾 Chez les animaux de compagnie, il y a aussi des preuves de l'activation du système de coagulation. *Le temps de survie du fibrinogène* est diminué chez les chiens présentant des tumeurs métastatiques, une indication qui montre que le fibrinogène est consommé plus rapidement à cause d'une activation augmentée de la cascade de coagulation [109]. Des temps de coagulation TTPA et TP raccourcis, traduisant un état d'hypercoagulabilité, ont été détectés chez 14% de chiens atteints par un processus tumoral.

Les mécanismes par lesquels le système de la coagulation est activé sont variés.

3.2.1. Désordres myéloprolifératifs et anomalies plaquettaires intrinsèques

Certains dysfonctionnements plaquettaires peuvent être à l'origine d'une tendance thrombotique présentée par certains patients atteints de désordres myéloprolifératifs. Nous donnerons quelques exemples.

3.2.1.1. Anomalies membranaires plaquettaires

Sur une étude de 23 patients humains présentant des désordres myéloprolifératifs variés, 20 patients ont des plaquettes qui montrent une *perte sélective de la réponse à la prostaglandine D2*, un produit plaquettaire inhibiteur de l'activation plaquettaire. Les plaquettes de ces patients requièrent des concentrations en PGD2 dix fois plus importantes

que la normale pour inhiber l'agrégation plaquettaire induite par le collagène ainsi que le relargage de sérotonine ; ceci a été attribué à une **perte de l'adénylcyclase membranaire plaquettaire** normalement activée par la PGD2 (perte estimée par radioligands, de 50% des récepteurs). Les réponses aux autres prostaglandines (PGE2 et PGI2) étaient tout à fait normales, confirmant l'existence de récepteurs plaquettaires distincts pour la PGD2 et PGE2/PGI2 [129].

Parce que la PGD2, en tant qu'inhibiteur de la fonction plaquettaire, est supposée exercer une action feedback dans le but de limiter l'agrégation plaquettaire, une perte de sensibilité plaquettaire à cette hormone pourrait être à l'origine de phénomènes thrombotiques. Les patients avec une réponse plaquettaire anormale à la PGD2 *tendent ainsi à développer plus de désordres thrombotiques* mais *aucune association claire n'a été mise en évidence*.

Ce défaut en récepteur plaquettaire de la PGD2 ne semblerait pas entièrement spécifique des patients à désordre myéloprolifératifs ; une telle déficience (bien que moins prononcée) a été retrouvée chez des patients présentant une thrombophlébite ou une embolie pulmonaire.

D'autres défauts membranaires ont été identifiés comme une **expression augmentée du récepteur plaquettaire à la fraction Fc des immuns-complexes**. 76% des plaquettes lors de syndromes myéloprolifératifs fixent ainsi des immuns-complexes conjugués à la fluorescéine, contre 3% des plaquettes normales (Cf. Chap. 2-1.2.1.3. page 75).

L'interaction des immuns-complexes avec les plaquettes portant des récepteurs Fc en quantité exagérée pourrait contribuer à des anomalies de l'hémostase. Mais *aucune corrélation claire avec des complications cliniques n'a été montrée* [129].

Un autre exemple fort intéressant est celui de **l'affinité augmentée des plaquettes pour le fibrinogène**, chez les patients présentant des syndromes myéloprolifératifs (Cf. Fig. 15 page 112). L'interaction plaquette-fibrinogène est centrale dans le processus de l'agrégation plaquettaire.

L'affinité des plaquettes pour le fibrinogène a été étudiée par radioisotopie, qui mesure la liaison des plaquettes à du fibrinogène marqué à l'iode 125 et par technique agrégométrique (Cf. Chap. 2-3.3. page 116).

La constante de dissociation K_d de la réaction plaquette-fibrinogène fut, chez les sujets normaux, de $2,6 \pm 0,6 \times 10^{-7}$ mol/L (agrégométrie) à $3,5 \pm 1,5 \times 10^{-7}$ mol/L (radioisotypie), contre $0,65 \pm 0,18 \times 10^{-7}$ mol/L (agrégométrie) et $0,35 \pm 0,15 \times 10^{-7}$ mol/L (mais avec deux valeurs principales de $0,58 \pm 0,3 \times 10^{-7}$ mol/L et $5,12 \pm 3,1 \times 10^{-7}$ mol/L par radioisotypie) chez les patients atteints de désordres myéloprolifératifs.

Aucune corrélation entre la numération plaquettaire et la valeur de la K_d ne fut établie chez ces patients. La radioisotypie dénombra $18\ 000 \pm 2\ 500$ sites-récepteurs / plaquette chez les sujets normaux contre $8\ 100 \pm 1\ 800$ sites-récepteurs / plaquette chez les malades.

*La liaison plaquette- fibrinogène se fait par l'intermédiaire du complexe membranaire de glycoprotéines Gp IIb-IIIa. Une modification qualitative de ce complexe, et plus précisément une **modification de la glycosylation de ces glycoprotéines** [27], serait donc à l'origine de l'augmentation de l'affinité des plaquettes pour le fibrinogène chez les patients atteints de désordres myéloprolifératifs. L'affinité exacerbée des plaquettes pour le fibrinogène jouerait un rôle dans *la diathèse thrombotique de ces patients*.*

☞ En réalité, toute modification des glycoprotéines plaquettaires membranaires peut causer une interaction plaquettaire anormale avec les autres protéines adhésives et le sous-endothélium, contribuant ainsi à la tendance thrombo-hémorragique des patients présentant des désordres myéloprolifératifs.

3.2.1.2. Métabolisme de l'acide arachidonique anormal

Deux voies du métabolisme de l'acide arachidonique existent dans la plaquette. *La voie de la cyclooxygénase* (inhibée par l'aspirine) génère le thromboxane A₂, un vasoconstricteur potentiel et inducteur de l'agrégation plaquettaire, tandis que *la voie de la lipoxygénase* conduit à des hydroperoxyacides gras, dont les derniers métabolites sont chimiotactiques pour les leucocytes et dont le rôle biologique n'est pas clarifié.

En utilisant un dosage direct de **l'activité lipoxygénase** des plaquettes, **une déficience spécifique de cette activité enzymatique** a été retrouvée chez 24 des 60 patients atteints de syndromes myéloprolifératifs, alors que cette activité enzymatique était normale chez les patients présentant une thrombocytose réactive ou polycythémie secondaire.

La déficience plaquettaire de la voie de la lipoxygénase entraîne *une production augmentée de thromboxane* (probablement puisque l'acide arachidonique ne peut alors être métabolisé que par cette voie) ce qui en première approche pourrait être synonyme de thrombose.

☞ *Mais de façon surprenante, de tels patients présentent des tendances hémorragiques, malgré la quantité augmentée de thromboxane.* Ceci soulève la possibilité que les métabolites plaquettaires de la lipoxygénase pourraient jouer un rôle dans le contrôle de l'hémostase [129].

☞ Ce phénomène souligne la délicate balance de la régulation des phénomènes hémorragiques et thrombotiques et l'imprévisibilité des complications cliniques qui peuvent

survenir, non seulement chez les patients présentant des désordres myéloprolifératifs mais aussi chez n'importe quel patient atteint d'un processus cancéreux.

3.2.2. Hyperagrégabilité par activation plaquettaire extrinsèque

D'autres mécanismes pour expliquer l'hyperagrégabilité plaquettaire chez le patient humain cancéreux, ont été proposés comme [69] :

- le relargage d'enzymes procoagulantes et fibrinolytiques dans la circulation, par le tissu tumoral
- la diminution du taux d'antithrombine III par défaut de synthèse à cause d'une infiltration tumorale hépatique ou par perte par insuffisance rénale
- le relargage de facteurs thromboplastine-like par le tissu tumoral

Toutes ces situations activent les plaquettes et peuvent être à l'origine d'une CIV locale ou disséminée.

Les substances procoagulantes sont exprimées par la tumeur ou sont le résultat de la présence tumorale et regroupent le facteur tissulaire, le complexe facteur tissulaire- facteur VII et le procoagulant tumoral.

3.2.2.1. Activité thromboplastine-like

Le facteur tissulaire (ou thromboplastine) est une glycoprotéine membranaire ubiquitaire exprimée dans différents tissus normaux et tumoraux. Quand il est exposé au flux sanguin suite à une lésion vasculaire, le facteur tissulaire sert de site pour l'activation du facteur VII. Une fois activé, le complexe facteur tissulaire-facteur VIIa active à son tour les facteurs IX et X et la cascade continue, aboutissant à la formation de thrombine, un puissant activateur plaquettaire et formateur de fibrine.

Il a été montré que **certaines cellules malignes présentaient une activité thromboplastine-like augmentée** : par exemple, les promyélocytes leucémiques humains produisent un facteur activité thromboplastine-like, promouvant un état d'hypercoagulabilité. D'autres tumeurs ont été décrites comme présentant cette activité thromboplastine-like : l'ostéosarcome chez l'Homme et l'hépatome chez le rat [110].

Toutefois, la plupart de ces études ont été réalisées avec des homogénats de tumeurs et une hypothèse a été évoquée selon laquelle ces facteurs thromboplastine-like pourraient être

également issus des *monocytes et macrophages* ayant infiltré la tumeur. En effet, les monocytes et macrophages ont la possibilité de libérer de la thromboplastine, en réponse à une variété de stimuli incluant la présence de cellules malignes par l'intermédiaire d'antigènes tumoraux, d'immuns-complexes ou de protéases tumorales. Ainsi dans une étude, des monocytes sanguins de patients cancéreux humains présentèrent une activité thromboplastine-like augmentée, corrélée avec une concentration de fibrinopeptide A (PDF) augmentée [110].

Du facteur tissulaire circulant a été mesuré dans le sérum et l'urine de patients cancéreux [55].

3.2.2.2. Le procoagulant tumoral

Le procoagulant tumoral, une *cystéine protéase* qui active directement le facteur X, est présent dans les extraits cellulaires tumoraux mais pas dans les cellules normalement différenciées. Le procoagulant tumoral circulant est significativement élevé chez 85% des patients cancéreux en comparaison de sujets normaux.

☞ Un procoagulant tumoral a été mis en évidence lors d'une leucémie aiguë non myéloïde et **l'étude de son expression par les cellules de la moelle osseuse a été sérieusement envisagée pour suivre la course de la maladie** car son expression augmente au moment d'une rechute, avant que des cellules tumorales ne réapparaissent [55].

La présence excessive du procoagulant tumoral entraîne la *formation excessive de thrombine* à l'origine de la synthèse de fibrine et de l'activation plaquettaire. D'autres procoagulants ont été décrits (comme l'albumine- associée aux acides gras, la mucine des adénocarcinomes...).

Des substances procoagulantes peuvent aussi être relarguées *quand les cellules tumorales sont lysées ou deviennent nécrotiques*. Les patients à forte charge tumorale subissant une chimiothérapie ou une radiothérapie agressives peuvent être ainsi prédisposés à une thrombose et une CIVD, à cause du re largage de substances thromboplastine-like par les cellules tumorales nécrotiques.

Des lésions des vaisseaux sanguins peuvent aussi entraîner une exposition excessive de ces substances procoagulantes et *l'augmentation de la perméabilité vasculaire* leur permet l'accès à la circulation systémique. Ce phénomène survient lors :

- d'invasion de la vascularisation par des tumeurs endothéliales primitives (hémangiosarcomes)
- d'hématopoïèse extramédullaire dans les parois vasculaires
- des syndromes d'hyperviscosité (myélome multiple) dans lesquels les précipités de paraprotéines lèsent la microvascularisation [69].

☞ Quelque soit le mécanisme à son origine, une augmentation de l'activité plaquettaire conduit à une activation du système de coagulation avec production de plasmine et activation consécutive du système de fibrinolyse. La clinique et les examens de laboratoire reflètent alors la balance dynamique entre hypercoagulation et fibrinolyse.

La thrombose est moins commune chez les animaux de compagnie atteints par un processus tumoral que chez l'Homme. L'incidence chez l'animal est peut-être sous-estimée à cause du manque de recherche après une mort inexplicée ou du développement d'une CIVD masquant la situation. Malgré tout, *la thrombose des artères iliaques chez le chien à lymphome gastro-intestinal, sans aucun autre désordre hématologique* (numération plaquettaire normale, TTPA, TQ, concentration en fibrinogène normaux, PDF négatifs), a été décrit en médecine vétérinaire [110].

3.3. Diagnostic d'une thrombocytopathie

Le diagnostic clinique d'une thrombocytopathie est peu évident : des symptômes de saignements caractéristiques d'un défaut de fonctionnement plaquettaire comme un épistaxis ou des ecchymoses spontanées, peuvent survenir chez des animaux apparemment sains ; à l'opposé, des animaux souffrant d'anomalies profondes du fonctionnement plaquettaire, peuvent présenter des saignements spontanés négligeables [53].

Les examens de laboratoire sont alors indispensables. Si la numération plaquettaire ainsi que les temps de la coagulation intrinsèque et extrinsèque sont normaux, un défaut plaquettaire qualitatif doit alors être suspecté chez un animal présentant une clinique évoquant un trouble de l'hémostase. Des tests simples de laboratoire existent, aisément utilisables pour le praticien vétérinaire. Des tests plus performants sont utilisés en médecine humaine ou en recherche vétérinaire.

3.3.1. Le temps de rétraction du caillot

La rétraction du caillot sanguin teste les mécanismes de l'hémostase. Il est facilement réalisable et nécessite une numération normale de plaquettes fonctionnelles. Du sang entier est dilué à part égale dans une solution salée tamponnée froide et 1 UI de thrombine bovine est ajoutée pour induire la coagulation. La rétraction du caillot survient habituellement sous une à deux heures à 37°C (lyse du caillot en 48h sur un temps de Quick ou de thromboplastine partiellement activé).

Ce temps est considérablement augmenté lors de :

- thrombocytopénie sévère
- *dysfonctionnement plaquettaire.*

☞ Les déficiences en facteurs de la coagulation, y compris la maladie de Von Willebrand, n'augmentent habituellement pas le temps de rétraction du caillot.

3.3.2. Le temps de saignement

Le temps de saignement, admis comme étant une évaluation de l'hémostase primaire, est un excellent test de *dépistage des anomalies de fonctionnement plaquettaire acquises* ou congénitales. Le temps de saignement est réalisé par une incision profonde de la peau, en face interne du pavillon auriculaire, ou mieux par une incision de la muqueuse gingivale, de 5 mm avec une aiguille. On déclenche le chronomètre. On essuie les gouttes de sang avec un papier filtre toutes les 30 secondes en évitant de toucher la peau. Quand le sang n'apparaît plus au site de ponction, le chronomètre est arrêté. Le temps de saignement normal varie de une à cinq minutes. Il est augmenté lors de :

- thrombocytopénie
- lésion ou fragilité vasculaire
- *thrombocytopathie extrinsèque* (maladie de Von Willebrand) *ou intrinsèque* aux plaquettes.

En dessous de 100 000 plaquettes par mm³, il existe une relation approximativement inverse entre la numération plaquettaire et le temps de saignement. Ainsi pour identifier les patients avec un dysfonctionnement plaquettaire superposé à une thrombocytopénie, une formule standardisée a été jugée utile chez l'Homme :

Temps de saignement (minutes) = $30,5 - \text{numération plaquettaire par } \mu\text{L} / 3850$
du patient thrombopénique

Si le temps de saignement réel est improprement augmenté par rapport au temps calculé, c'est-à-dire par rapport au degré de thrombocytopénie présent, le patient est suspecté de présenter simultanément un désordre plaquettaire quantitatif et qualitatif [33].

Les patients à thrombocytopathie requièrent des tests spécialisés pour la description spécifique de leur anomalie fonctionnelle. Les tests qui suivent ne sont, dans la plupart des cas, disponibles que dans des laboratoires spécialisés de médecine humaine ; en médecine vétérinaire, ils ne sont pratiqués que dans le cadre de la recherche.

3.3.3. Mesure de l'adhésivité plaquettaire

Le procédé le plus couramment utilisé est la mesure de la rétention des plaquettes, passées le long d'une colonne de grains de verre ou de plastique. Ce test permet de diagnostiquer les défauts d'adhésion plaquettaire intrinsèques comme le syndrome de Bernard-Soulier et la déficience extrinsèque en facteurs plasmatiques comme la maladie de Von Willebrand.

3.3.4. Mesure de l'agrégation plaquettaire

Un instrument nommé agrégomètre a été largement utilisé chez l'Homme et l'animal pour évaluer l'interaction plaquette à plaquette. La réponse plaquettaire d'agrégation à l'ADP, thrombine et autres agonistes plaquettaires peut être mesurée. L'agoniste est ajouté à une suspension de plaquettes et la réponse d'agrégation est mesurée par l'intermédiaire d'une augmentation de la transmission de la lumière à travers la suspension (Cf. Fig. 14 page 107).

3.3.5. Electrophorèse des glycoprotéines

L'électrophorèse des glycoprotéines est un outil important dans le diagnostic des défauts membranaires plaquettaires, qui résultent en une perturbation de l'adhésion, de l'agrégation ou du relargage plaquettaire. De plus, des techniques d'immunoélectrophorèse permettent la mesure de facteurs plasmatiques spécifiques comme le facteur de Von Willebrand et d'autres

composés de la molécule facteur VIII (la démonstration d'une diminution des antigènes facteurs de Von Willebrand et VIII est nécessaire pour établir le diagnostic définitif d'une maladie de Von Willebrand).

D'autres méthodes biochimiques, immunologiques et radioimmunologiques existent et fournissent le moyen de mesurer la production plaquettaire endogène.

Quand elles sont combinées à l'électrophorèse, ces méthodes sont des aides très sensibles pour le diagnostic des maladies de stockage plaquettaires.

☞ La mesure de l'agrégation plaquettaire et du temps de saignement restent tout de même difficiles à quantifier et interpréter. De plus, ils n'apportent *aucune aide quant à l'évaluation du risque pour un patient de développer une clinique hémorragique ou thrombotique.*

3.4. Agents modifiant le fonctionnement plaquettaire : perspectives de traitement

3.4.1. Les antiplaquettaires

Les antiplaquettaires sont des substances s'opposant à l'activité des plaquettes, largement utilisées en médecine vétérinaire, dans la prévention et le traitement (adjuvant des thrombolytiques) des thrombi. En effet chez le chien et le chat, les thrombi sont le plus souvent des *thrombi artériels plaquettaires* (cardiopathies, syndrome de Cushing, dirofilariose, syndrome néphrotique, tumeurs...). Des modèles expérimentaux canins montrent que les thrombi artériels initialement composés de plaquettes et de fibrine se transforment en thrombi riches en plaquettes et pauvre en fibrine après thrombolyse [54] (Cf. page 45).

3.4.1.1. Mécanismes d'action

L'action des antiplaquettaires est fondée sur les différentes voies conduisant à l'agrégation plaquettaire et en particulier sur le métabolisme de l'acide arachidonique. Différentes stratégies sont possibles [29] :

- inhiber la cyclooxygénase (Cox-1) : acide acétylsalicylique (AAS) (Aspirine®)

- inhiber la thromboxane synthétase
- bloquer le récepteur du thromboxane A2
- diminuer la quantité de calcium ionisé libre cytoplasmique des plaquettes, en augmentant l'AMPc plaquettaire (dipyrimadole, PGI2, théophylline..), en augmentant la GMPc plaquettaire (le monoxyde d'azote= endothelium derived relaxing factor, encore à l'étude) ou en utilisant les inhibiteurs calciques (diltiazem, vérapamil, nifédipine)
- bloquer le récepteur gp IIb/IIIa : abciximab (Réopro®)
- autres mécanismes : la ticlopidine altérerait l'expression des récepteurs au fibrinogène en réponse à la stimulation par un agoniste (mécanisme exact inconnu).

Les antiplaquettaires ont également une action sur la fibrinolyse. En effet, *les plaquettes contiennent dans leurs granules des inhibiteurs du système fibrinolytique, le PAI-1 et l' α 2-antiplasmine*, qui peuvent donc limiter la thrombolyse. Les plaquettes peuvent aussi remplacer le facteur XIIIa dans la fibrine stable, augmentant ainsi sa résistance à la lyse. De nombreuses études tendent à démontrer que les thrombi riches en plaquettes sont particulièrement résistants à la lyse. *Les antiplaquettaires vont alors aussi faciliter la thrombolyse* [29].

3.4.1.2. Les molécules

En médecine humaine, les molécules susceptibles d'inhiber la thromboxane synthétase, bloquer le récepteur du thromboxane A2 ou diminuer la quantité de calcium ionisé libre cytoplasmique des plaquettes sont en cours de développement, afin le plus souvent de limiter leurs effets secondaires.

En médecine vétérinaire, l'AAS reste un antiplaquettaire d'utilisation assez sûre et peu onéreuse. Les inhibiteurs du récepteur gp IIb/IIIa offrent de belles perspectives d'utilisation future.

► L'AAS (Aspirine®)

L'AAS inhibe la cyclooxygénase plaquettaire (en acétylant le groupe hydroxyle du résidu sérine en position 529 de la chaîne polypeptidique de la cyclooxygénase), bloquant la

formation de thromboxane A2, ce qui diminue l'agrégation plaquettaire et la vasoconstriction. L'AAS acétyle également la cyclooxygénase des cellules endothéliales vasculaires et empêche ainsi la formation de prostacyclines vasodilatatrices et antiagrégantes plaquettaires. Sa demi-vie plasmatique est courte, de 15 à 30 minutes, puis il est hydrolysé dans le plasma en acide salicylique dont l'élimination s'effectue ensuite par glucuroconjugaison hépatique. L'excrétion est urinaire.

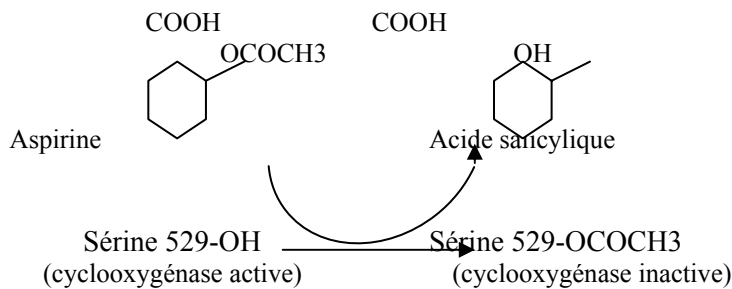


Fig. 16 : Inhibition de la cyclooxygénase par l'acide acétylsalicylique.

En pratique, il existe plusieurs moyens d'obtenir un degré maximal d'inhibition de la cyclooxygénase plaquettaire, tout en préservant la production de prostacyclines : en agissant sur la fréquence et la dose. Les plaquettes, anucléées, ne possèdent pas le matériel nécessaire pour synthétiser une nouvelle enzyme. L'effet d'inhibition de la cyclooxygénase plaquettaire par l'AAS est donc irréversible et dépend du turnover plaquettaire (8 jours). Les doses administrées quotidiennement d'AAS sont donc cumulatives et l'inhibition complète de la synthèse plaquettaire de thromboxane est obtenue après 7 à 10 jours de traitement. A l'inverse, les cellules endothéliales étant nucléées, l'inhibition de la production de prostacyclines est réversible et persisterait moins de 24 heures [111].

Ensuite, l'effet inhibiteur de l'AAS sur la cyclooxygénase plaquettaire est rapide. Il survient avant l'apparition de l'AAS dans la circulation systémique, probablement car l'acétylation de la cyclooxygénase plaquettaire a lieu dans la circulation porte. En conséquence, plus la dose d'AAS est élevée, plus la probabilité est grande pour que l'AAS échappe au premier passage métabolique et soit disponible pour inhiber la cyclooxygénase des cellules endothéliales [111].

En pratique, on utilisera donc toujours **des doses faibles**.

En médecine humaine, la posologie recommandée de l'AAS en tant qu'agent anti-plaquettaire est une dose quotidienne de 75 mg soit 1,25 mg/kg pour un sujet de 60 kg. En médecine vétérinaire, les posologies proposées sont variables selon les auteurs ; **celles que**

l'on emploiera seront toujours faibles de 5 à 10 mg/kg/ 2 fois par jour chez le chien et 25 mg/kg/PO tous les 3 jours chez le chat (chez qui l'acide salicylique a une demi-vie longue en raison de sa carence en acide glucuronique : 44,6 h contre 3 à 9 h chez l'Homme à la posologie de 25 mg/kg/j) **en prévention des thrombo-embolies chez les animaux à risque.**

Parfois face à un manque d'effet clinique et à un risque potentiel de complications gastro-intestinales (10 à 15% de saignements gastro-intestinaux importants lors de traitements prolongés) et rénales, l'utilisation de l'AAS est décevante. En effet, la plupart des cellules de l'organisme synthétisent des prostaglandines ou du thromboxane grâce à la voie de la cyclooxygénase cox-1. Ces eicosanoïdes participent à la régulation locale de diverses fonctions comme la sécrétion acide de l'estomac et le contrôle de la pression artérielle (synthèse de prostaglandines vasodilatatrices rénales), ce qui explique les complications potentielles associées à l'emploi d'AAS.

L'AAS reste néanmoins le seul antiplaquettaire utilisable à l'heure actuelle en médecine vétérinaire.

► **L'abciximab (Réopro®)**

Le complexe gpIIb/IIIa joue un rôle fondamental dans l'agrégation des plaquettes les unes aux autres. Il possède en effet un récepteur pour le fibrinogène, dévoilé après activation plaquettaire. Le fibrinogène forme, avec l'intervention du calcium libéré par les granules denses des plaquettes activées, des ponts entre les complexes glycoprotéiques de plaquettes adjacentes. Ce complexe, outre le fibrinogène, après activation fixe aussi d'autres protéines adhésives : la fibronectine, la vitronectine et le facteur Von Willebrand. Ces 4 protéines ont une séquence peptidique commune arginine-glycine-acide aspartique-sérine par laquelle elles se fixent à cette glycoprotéine.

Le récepteur gpIIb/IIIa peut être bloqué par [29] :

- des peptides contenant la séquence arginine-glycine-acide aspartique synthétiques ou isolés de venin de serpents ou de sangsues
- des anticorps monoclonaux
- des antagonistes non peptidiques spécifiques du récepteur gpIIb/IIIa.

L' abciximab (Réopro®) est un anticorps monoclonal, dont l'utilisation chez l'Homme est limitée aux épisodes aigus, à cause des risques accrus de saignements et de son immunogénicité potentielle, nécessitant une surveillance rapprochée du patient pendant

traitement (il est indiqué en complément de l'AAS et l'héparine, dans la prévention des complications cardiaques chez les patients ayant subi une angioplastie coronarienne) [36].

On dispose ici d'un anti-agrégant spécifique, puissant mais qui est encore loin d'être utilisable en médecine vétérinaire, à cause de son coût et du suivi thérapeutique nécessaire. Néanmoins, le praticien vétérinaire peut toutefois espérer bientôt disposer de nouveaux antiplaquettaires, plus efficaces que les inhibiteurs de la cyclooxygénase.

3.4.1.3. Utilisation des antiplaquettaires dans le cadre des thrombocytopathies d'origine cancéreuse

L'indication du traitement à l'AAS doit être dictée par la *clinique* présentée par le patient et avec le support des *tests de laboratoire de la fonction plaquettaire* (temps de saignement et agrégométrie si disponible). **Il n'est en général pas possible de relier le résultat des examens de laboratoire au risque de développer des saignements ou des thromboses.** La décision d'utiliser l'AAS doit donc être individualisée et réévaluée périodiquement chez le même patient. Des études ont montré l'existence de complications majeures de saignements ou de prolongations du temps de saignement lors de l'utilisation d'AAS chez des patients présentant des désordres myéloprolifératifs. Même une thrombocytose extrême n'est pas une indication pour un usage prophylactique de l'AAS : ces patients sont tout aussi susceptibles de développer des troubles hémorragiques que des troubles thrombotiques [129].

Une approche possible de l'utilisation de l'AAS a été décrite chez des patients humains souffrant de désordres myéloprolifératifs et est retranscrite dans le schéma suivant :

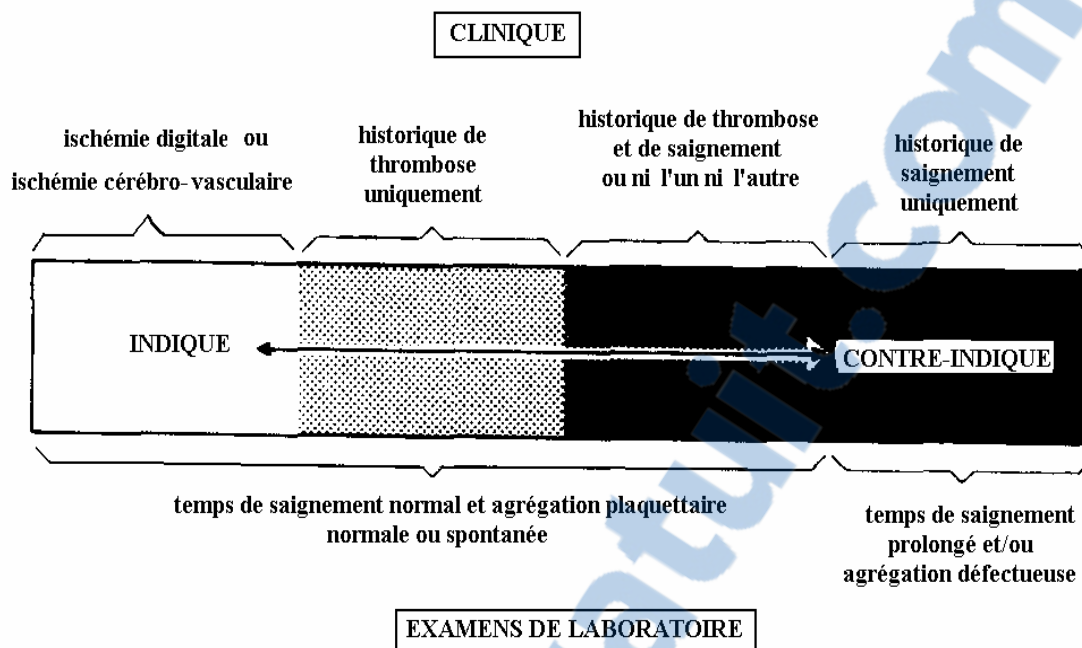


Fig. 17 : Indications et contre-indications relatives pour l'utilisation de l'acide acétylsalicylique chez les patients à désordres myéloprolifératifs [129].

Le bénéfice relatif de l'utilisation de l'AAS chez les patients ayant un historique mixte de saignement et thrombose ou n'en ayant aucun, n'est pas établi. Même chez les patients à thromboses récurrentes, l'efficacité de l'AAS dans la prévention des récurrences n'est pas évidente.

3.4.2. L' interleukine 6 : augmentation de la réactivité plaquettaire

L'interleukine 6 (IL-6) est une cytokine aux actions biologiques nombreuses. Elle présente des effets variés sur les mécanismes de l'hémostase comme une élévation *modérée* de la numération plaquettaire chez le patient thrombocytopénique ou non, animal et humain, une augmentation du fibrinogène plasmatique et une augmentation de la taille des plaquettes.

De plus, une étude montra que l'administration d'IL-6 conduit à la production de plaquettes présentant une réactivité augmentée face à la thrombine [114], suggérant que les cytokines qui augmentent la thrombopoïèse quantitativement, peuvent aussi modifier la fonction plaquettaire. Des effets analogues sur la lignée myélo-monocytaire ont été décrits avec le granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) et le granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) [141].

Le mécanisme physiologique par lequel l'IL-6 augmente la sensibilité plaquettaire à la thrombine n'est pas clairement connu et pourrait être :

- une stimulation de la production plaquettaire conduisant à un afflux de jeunes plaquettes dans la circulation
- une modification de la plaquette, quelque soit son âge
- et/ou les deux mécanismes.

En effet, certaines études ont suggéré que les jeunes plaquettes, récemment produites, pouvaient être hyperfonctionnelles [12, 145]. Toutefois, ces études anciennes n'étaient jusqu'à présent pas validées compte tenu du manque de capacité de distinguer clairement les jeunes des vieilles plaquettes. A cette fin, un colorant l'orange thiazolé (OT), liant l'ARN des jeunes plaquettes a été utilisé ; les plaquettes colorées (plaquettes OT+) ont ainsi moins de 24 heures d'âge [31]. L'utilisation de cette méthode confirma chez le chien l'hypothèse que *les jeunes plaquettes présentent une sensibilité augmentée à une stimulation par la thrombine* [115].

On a alors comparé la sensibilité à la thrombine de jeunes plaquettes, traitées avec l'IL-6 (à 40 µg/kg/j) contre celles traitées avec la thrombopoïétine (TPO à 1 µg/kg/j) et celles non traitées (Cf. Fig. 18). La TPO présente *in vivo* de forts effets thrombocytopoïétiques (Cf. Chap. 2-1.4.2.) ; l'IL-6 connaît aussi des effets thrombocytopoïétiques, mais beaucoup plus modérés. Les jeunes plaquettes traitées avec l'IL-6 sont en substance plus réactives à la thrombine que les jeunes plaquettes traitées à la TPO et que le témoin, à numérations plaquettaires similaires (ou légèrement supérieures chez les plaquettes traitées à la TPO).

L'IL-6 présente donc un effet direct de stimulation de l'activité plaquettaire, clairement différent de l'effet de la TPO.

Le mécanisme moléculaire n'est pas connu.

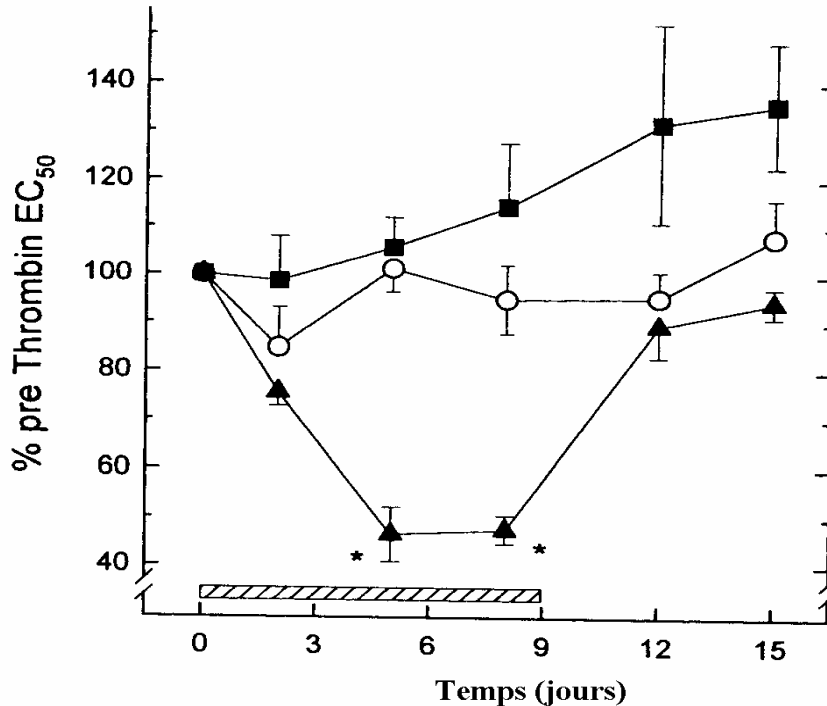


Fig. 18 : La Thrombin E 50 est la concentration effectrice de thrombine entraînant l'activation de 50% des plaquettes présentes. Pour chaque point, la Thrombin E 50 a été déterminée et rapportée à l'EC 50 avant traitement (pre Thrombin E 50). Le résultat est exprimé en pourcentage pour les jeunes plaquettes OT+, après administration d'IL-6 (▲), TPO (■) et témoin (O). L'IL-6 a été administrée du jour 0 au jour 9, indiqué par la barre hachurée. Pour le traitement à l'IL-6, une diminution significative de la Thrombin E 50 a été observée aux jours 5 et 8 ($P < 0,001$; noté par un astérisque *).

☞ **La thrombopoïétine** augmente la production plaquettaire mais n'altère pas la fonction plaquettaire de façon significative, ceci la rendant d'un emploi sûr en thérapeutique.

☞ **L'interleukine 6** modifie grandement le fonctionnement des plaquettes de tous âges, avec un risque potentiel de déclencher des thromboses. Toutefois, *si la numération plaquettaire est basse et que des saignements surviennent, l'IL-6 est potentiellement capable d'améliorer ces saignements, en augmentant la réactivité des plaquettes* [113].

Toutefois une étude récente [150] a montré que l'administration d'IL-6 favorisait également la croissance tumorale (le mécanisme est précisé dans le chapitre 4 - 1.1.2. page

146) ce qui contre-indique son utilisation thérapeutique mais ouvre une nouvelle voie de recherche pour la lutte contre le cancer.

Remarque :

D'autres molécules ont subi des essais cliniques chez l'Homme dans le cadre *des traitements des troubles de l'hémostase conduisant à un état hémorragique*. C'est le cas de la **desmopressine** (1-désamino-8-D-arginine vasopressine) qui peut corriger, de façon transitoire, le temps de saignement de la plupart des patients à insuffisance rénale chronique et autres désordres acquis de la fonction plaquettaire (Cf. Chap. 2-3.1.1.).

Bien que cette thérapie soit habituellement bien supportée, un risque de sérieuses complications existe, en particulier des hyponatrémies chez les enfants et des thromboses artérielles chez les patients âgés.

Le rôle de la desmopressine dans le traitement des anomalies acquises de la fonction plaquettaire reste donc à préciser.

CONCLUSION : TROUBLES PLAQUETTAIRES QUALITATIFS ET QUANTITATIFS

- Les désordres plaquettaires sont très fréquents lors de processus tumoral et leur étiopathogénie est complexe.
- Des dysfonctionnements plaquettaires coexistent souvent avec des anomalies quantitatives plaquettaires mais sont de diagnostic difficile en médecine vétérinaire.
- La clinique de saignement ou de thrombose est le plus souvent imprévisible, même avec l'appui des tests biologiques, tant la balance de régulation de l'hémostase est délicate.
- La population plaquettaire d'un individu évolue dans ses caractéristiques numériques et fonctionnelles au cours de la maladie.

CHAPITRE 3 : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE

DES DESORDRES PLAQUETTAIRES

LORS DE PROCESSUS TUMORAL

INTRODUCTION

Bien que de nombreux travaux aient été consacrés aux mécanismes physiopathogéniques des désordres plaquettaires survenant lors de néoplasie, les informations quant à leur fréquence de survenue en médecine vétérinaire sont limitées. La thrombocytopénie reste la mieux documentée.

1. Epidémiologie de la thrombocytopénie

La thrombocytopénie est le désordre plaquettaire le plus couramment observé en médecine vétérinaire ; elle survient à l'occasion d'une variété de conditions pathologiques [46].

En médecine vétérinaire, seules quelques études épidémiologiques ont tenté de définir le taux de prévalence de la thrombocytopénie associée à une pathologie tumorale.

1.1. Importance de l'étiologie tumorale dans la pathogénie d'une thrombocytopénie

1.1.1. Prévalence de l'étiologie tumorale chez les chiens thrombocytopéniques (population= chiens thrombocytopéniques)

Dans une publication [61], **une thrombocytopénie, définie par un taux de plaquettes inférieur à 200 000/ μ L**, fut décelée chez 987 des 18 910 chiens admis dans un hôpital universitaire, soit **5,2%** des chiens étudiés. Les chiens thrombocytopéniques furent ensuite classés selon différentes catégories étiologiques : maladies à médiation immune, néoplasies, affections inflammatoires / infectieuses et divers (trauma, insuffisances hépatique

et rénale, CIVD, pertes sanguines, origine inconnue...) ; la répartition selon les différentes catégories étiologiques fut la suivante (Tab. XVII page 130) :

Groupe pathologique	Médiation immune	Néoplasie	Inflammatoire	Divers
Proportion des chiens thrombocytopéniques (<200 000/ μ L)	5%	13%	23%	59%
Anémie (<33% PCV)	52%	38%	33%	17%
Neutrophilie (> 11 300/ μ L)	65%	52%	56%	41%
Neutropénie (<300/ μ L)	2%	5%	9%	8%
Grandes plaquettes	50%	25%	20%	15%
Prolongation du TP	4%	15%	15%	12%
Prolongation du TTPA	44%	58%	70%	61%
PDF (>40)	29%	25%	36%	24%
Femelles	67%	52%	42%	53%
Pures races	79%	74%	78%	80%
Grandes races	50%	85%	77%	78%
Age (ans)	7,0 \pm 3,7	8,6 \pm2,9	6,3 \pm 3,8	5,9 \pm 3,9

Tab. XVII : Caractéristiques des chiens thrombocytopéniques par groupes étiologiques [61].
 TP=taux de prothrombine, TTPA=temps de thromboplastine partiellement activée,
 PDF=produits de dégradation de la fibrine.

Les différentes catégories ont été définies :

- pour les thrombocytopénies à médiation immune, par un test aux anticorps anti-nucléaires positif ($\geq 1/80$), une préparation cellulaire positive au lupus érythémateux, une hyperplasie mégacaryocytaire ou une réponse à une thérapie immuno-suppressive ou à la splénectomie.
- pour les néoplasies, par diagnostic histopathologique ou cytopathologique.
- pour les maladies inflammatoires et infectieuses, par une confirmation de laboratoire de la présence de bactéries (culture microbienne positive), de rickettsies (diagnostic sérologique), de parasites (microfilarémie ou diagnostic sérologique), de virus (inclusions cellulaires du virus de la maladie de Carré, microscopie électronique sur fécès, sérologie), mycoses systémiques ou de maladies inflammatoires aseptiques comme la pancréatite.

-les affections diverses incluent les trauma, hémorragies aiguës, thérapies médicamenteuses, coagulopathies, hyperoestrogénisme, agrégation plaquettaire, CIVD et causes inconnues.

Lorsqu'une des entités précédentes est secondaire à une entité spécifique comme une infection ou un cancer, elle est placée dans la catégorie correspondante, à savoir infection ou cancer.

Dans cette étude, il apparaît que **13%** (taux de prévalence) des cas de thrombocytopénie (130/987) ont pu être expliqués par une affection tumorale sous-jacente, ce qui est un score relativement élevé (Cf. Tab. XVII page 130).

La numération plaquettaire moyenne chez les patients cancéreux est de **124 539/ μ L \pm 52 464**, mais elle peut également descendre **très bas** (<50000 dans 14% des cas, Fig 19)

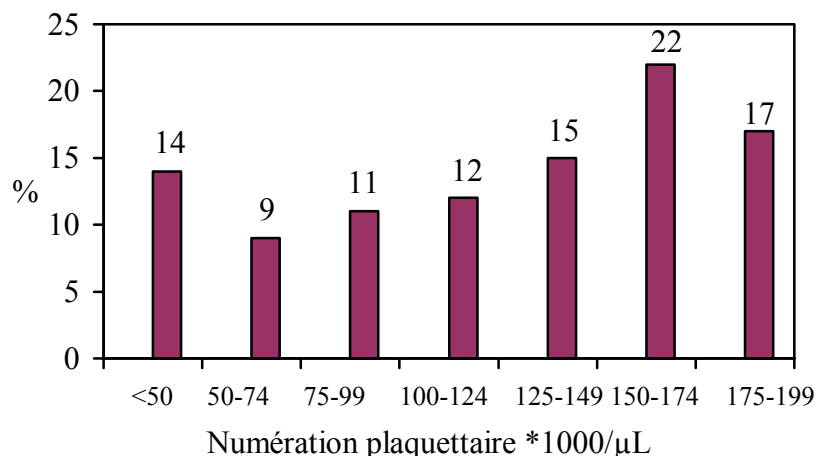


Fig. 19 : Distribution (%) des numérations plaquettaires chez les chiens thrombocytopéniques présentant une affection tumorale [60].

1.1.2. Prévalence de la thrombocytopénie au cours d'un processus tumoral (population= chiens à processus tumoraux)

☞ Une étude récente estime **la prévalence de la thrombocytopénie à 10% (214/ 2 059) des chiens présentant une affection tumorale et à 12% pour les chiens ayant développés une tumeur maligne** [60] (Cf. Tab XVIII page 132). Lors d'études précédentes, une thrombocytopénie fut mise en évidence chez **13 à 36%** des chiens ayant développé un processus tumoral [94, 109], ce qui est similaire aux publications de médecine humaine qui rapportent des prévalences de thrombocytopénie associée à une tumeur de **10 à 30%**.

L'observation de telles **variations** trouve très probablement son explication dans :

- **la qualité de l'échantillon étudié**, à savoir la prévalence et le stade des différents types tumoraux ainsi que l'extension de la maladie, l'infiltration de la rate ou de la moelle osseuse
- les races de chiens incriminées
- la présence ou l'absence de CIVD.

Dans l'étude estimant à 36% la thrombocytopénie associée à une tumeur [94], la plupart des chiens étudiés présentent ainsi de larges tumeurs invasives et métastatiques et 58% des chiens des néoplasmes hématolymphopoiétiques, majorant l'estimation de la prévalence.

Type tumoral	Nombre de chiens thrombopéniques	% *	Plaquettes/ μ L	% de grandes plaquettes	% plaquettes agrégées	Age (ans)	% femelles
Sarcome	42	16	116 476 \pm 46 821	31	7	8,7 \pm 3,0	57
Carcinome	60	19	122 667 \pm 54 218	15	5	9,9 \pm 3,0	55
Endocrine	6	16	144 333 \pm 43 542	0	17	8,3 \pm 2,9	33
Hémique (non-lymphoïde)	15	24	128 733 \pm 46 825	20	7	8,3 \pm 2,5	47
Bénigne	6	2	118 000 \pm 51 459	50	17	9,5 \pm 3,6	50
Non-classé	7	3	124 571 \pm 56 373	57	14	7,9 \pm 3,3	43
Multiple	10	2	135 800 \pm 51 792	30	0	10,0 \pm 3,2	40
Cerveau	6	18	51 333 \pm 31 313	50	0	9,0 \pm 1,7	0
Lymphoïde	62	37	118 210 \pm 58 104	18	8	7,7 \pm 2,5	48
Total (sur 2059 chiens cancéreux)	214	10	122 542\pm53 210	23	7	8,8\pm3,0	51

Tab. XVIII : Données concernant des chiens ayant développé un processus tumoral et une thrombocytopénie [60]

* pourcentage des chiens à l'intérieur d'un type tumoral, qui sont thrombocytopéniques.

Dans cette étude, **au moins une autre anomalie de l'hémostase a été détectée chez 72% des chiens thrombocytopéniques testés** (Cf. Tab. XIX page 133). Ceci est en accord avec les résultats de médecine humaine où **95% ou plus des patients humains présentant une affection tumorale maligne, ont des anomalies de l'hémostase avec ou sans signe clinique thromboembolique ou hémorragique associé** [60].

Type tumoral	% testés	↑TP >7,8s	↑ TTPA >13,6s	↑PDF >40 μg/mL	↓ fibrino gène <200 mg/dL	CIVD (%)	TP (s)	TTPA (s)	Numération plaquettaire (/μL)	PCV (%)
Sarcome	50	32	74	48	67	57	17,2±28,5	24,6±26,0	95 474±42 728	28±8,4
Carcinome	35	5	43	15	27	19	6,7±0,7	15,3±4,5	123 857±49 082	36±9,0
Endocrine	67	25	100	50	33	50	7,7±1,7	16,7±1,9	141 750±50 475	34±16,6
Hémique (non-lymphoïde)	33	0	60	0	80	40	6,5±0,2	14,3±4,9	114 600±27 493	50±13,8
Bénigne	83	0	20	40	40	0	6,4±0,2	14,6±3,9	104 000±44 739	36±6,8
Non-classée	43	33	67	33	67	67	7,2±1,4	17,2±4,0	104 000±55 504	26±9,5
Myélome multiple	30	0	33	33	50	33	6,7±0,7	14,9±2,1	69 000±34 029	24±3,7
Cerveau	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
Lymphoïde	44	4	37	11	38	22	7,0±1,3	14,9±5,8	105 458±62 604	35±8,6
hémangiosarcome	56	50	100	50	75	90	17,4±27,-	25,6±25,0	68 900±29 988	25±7,1
Total (%)	42	11	51	25	49	33	9,1±14,0	17,2±13,5	106 862±52 861	34±10,9

Tab. XIX : Données concernant des chiens ayant développé un processus tumoral et une thrombocytopénie [60].

Une diminution des concentrations en fibrinogène et une prolongation du TTPA, plus sensible que le TP, sont les deux anomalies les plus fréquemment observées.

☞ Le fibrinogène voit sa concentration augmenter lors d'activation du système de la coagulation mais également au cours d'un processus inflammatoire. Néanmoins, une consommation excessive lors de CIVD et une diminution de sa production peuvent faire diminuer sa concentration. Ainsi, **un patient cancéreux peut avoir une concentration en fibrinogène augmentée ou diminuée, dépendante des facteurs précédemment évoqués** (ainsi, une substance comme la L-asparginase qui inhibe la synthèse protéique, doit être utilisée avec précaution chez les patients cancéreux présentant une coagulopathie).

1.2. Influence du type tumoral sur la thrombocytopénie

La même étude [60] a classé les chiens thrombocytopéniques selon le type de tumeur dont ils étaient affectés et a révélé les ratios proportionnels suivants : tumeur lymphoïde 29% (62/214), carcinome 28% (60/214), sarcome 20% (42/214), tumeurs hématopoïétiques non

lymphoïdes 7% (15/214), myélomes multiples 5% (10/214), tumeurs non classées 3% (7/214), tumeurs bénignes 3% (6/214), tumeurs cérébrales 3% (6/214) et endocrines 3% (6/214) (Cf. Tab. XVIII). Aucune différence statistique ne fut mise en évidence entre la numération en neutrophiles, le PCV ou le sexe et le type tumoral. Les chiens thrombocytopéniques atteints de tumeurs lymphoïdes ou non classées sont significativement ($p=0,01$) plus jeunes ($7,7\pm 3,0$ et $7,9\pm 3,3$ ans respectivement) que les chiens à myélomes multiples ou carcinomes ($10,0\pm 3,2$ et $9,9\pm 3,0$ ans respectivement).

☛ **A l'intérieur d'un type tumoral, la thrombocytopénie survient plus fréquemment chez les chiens présentant des carcinomes, des tumeurs hématopoïétiques non lymphoïdes et lymphoïdes** (Cf. Tab. XVIII page 132).

De façon plus spécifique, le risque relatif par type tumoral de développer une thrombocytopénie avec un intervalle de confiance à 95%, (calculé en tant qu'un odds ratio) a été évalué (Cf. Tab. XX page 134) :

Type tumoral/ Sous-type	Risque relatif estimé	Intervalle de confiance ($p=0,05$)
Sarcome	1,85	1,26-2,71
Hémangiosarcome	8,38	4,16-16,86
Ostéosarcome	1,26	0,60-2,58
Carcinome	2,35	1,67-3,29
Mélanome	4,90	2,65-9,00
Carcinome nasal	1,98	0,58-5,44
Carcinome pulmonaire	2,92	0,82-8,55
Carcinome à cellules squameuses	1,86	0,68-4,34
Lymphoïde	6,83	4,71-9,89
Tumeurs hématopoïétiques non lymphoïdes	2,88	1,51-5,43
Mastocytome	1,66	0,78-3,43
Endocrine	1,10	0,37-2,71
Cerveau	1,87	0,63-4,68
Bénigne	0,15	0,05-0,33
Non classées	0,25	0,10-0,54
Myélome multiple	0,10	0,05-0,19
Population de base non tumorale	0,40	0,34-0,47

Tab. XX : Risque relatif estimé de développer une thrombocytopénie selon le type tumoral [60].

☞ **Dans cette étude, les chiens présentant des carcinomes (RR=2,3) et des tumeurs hématopoïétiques non lymphoïdes (RR=2,9) et lymphoïdes (RR=6,8) ont un plus grand risque de développer une thrombocytopénie.** Toutefois, le risque relatif correspondant aux carcinomes est majoré par l'intégration (abusiv) du mélanome dans le groupe des carcinomes ; or le risque relatif attribué aux mélanomes est de forte valeur (RR=4,9), à cause des thrombocytopénies fréquemment induites par une thérapie agressive (chirurgie, polychimiothérapie et immunothérapie) [60].

Ensuite, bien qu'en général les chiens atteints d'un sarcome ne présentent pas un risque accru de développer une thrombocytopénie, **les chiens présentant un hémangiosarcome ont un risque relatif de 8,3.** La thrombocytopénie a été documentée dans cette étude chez **47%** des chiens présentant un hémangiosarcome, 37% des chiens présentant une tumeur lymphoïde, 35% des chiens présentant un mélanome et 24% des chiens présentant une tumeur hématopoïétique non lymphoïde. Une autre étude concernant 24 chiens atteints d'hémangiosarcomes (du foie, de la rate, de l'atrium droit, du rein, du poumon, de l'omentum ou sous-cutané) établit que la thrombocytopénie, anomalie hémostatique la plus fréquente, était présente chez **75%** des chiens étudiés [63]!

☞ **En conclusion, cette étude corrobore des rapports précédents concluant à une association entre la thrombocytopénie et les tumeurs vasculaires et hémato lymphoïétiques.**

L'influence de la race sur le risque relatif de développer une thrombocytopénie a également été étudiée. Outre le **Boxer**, race bien connue pour sa tendance aux affections tumorales, le **Golden Retriever** atteint d'un processus tumoral est prédisposé au développement d'une thrombocytopénie.

Remarque : Les tests statistiques utilisés

Des tests statistiques descriptifs sont initialement utilisés pour analyser toutes les données. Une *analyse de la variance* (ANOVA pour one-way analysis of variance) est utilisée pour déterminer des différences significatives dans la numération des plaquettes et neutrophiles, du PCV, du sexe ou de l'âge et les groupes de tumeurs. Si l'analyse de variance est significative à $p=0,05$, un *test de Student t* est ensuite réalisé pour évaluer quels groupes diffèrent les uns des autres.

Pour les analyses statistiques analytiques, différentes populations témoins sont utilisées :

- chiens non thrombocytopéniques sans affection tumorale (16 078 chiens pour l'étude [60])
- chiens non thrombocytopéniques avec affection tumorale (1845 chiens)
- chiens thrombocytopéniques sans affection tumorale (773 chiens).

Le test du chi-deux (test du χ^2) est utilisé afin de déterminer si la population principale (chiens avec pathologie tumorale et thrombocytopéniques) diffère des populations témoins précédentes (avec l'utilisation d'une probabilité $p < 0,05$ pour la significativité statistique). Enfin, le *risque relatif estimé* de développer une thrombocytopénie avec un intervalle de confiance à 95% pour les chiens atteints de types tumoraux divers, a été calculé en tant qu'un odds ratio.

2. Epidémiologie de la thrombocytose

La thrombocytose est caractérisée chez le chien par une numération plaquettaire excédant 500 000 plaquettes par mm³ (800 000 chez le chat). Une étude [94] a estimé la prévalence de la thrombocytose à 3% des chiens atteints d'un processus tumoral.

Les chiffres en médecine humaine sont variables : certains types tumoraux comme le carcinome ovarien ou certains cancers pulmonaires ont une thrombocytose associée, le plus souvent par effet sur-compensatoire, dans environ 20 à 30% des cas. Mais la thrombocytose associée à une tumeur reste tout de même un phénomène **peu fréquent**. Inversement, environ 30% des thrombocytoses sont associées à un cancer [44] ; l'étiologie tumorale doit donc impérativement faire partie du diagnostic différentiel d'une thrombocytose.

3. Epidémiologie des dysfonctionnements plaquettaires

Une variété de désordres plaquettaires qualitatifs acquis lors de processus néoplasiques existe (Cf. Chap. 2- 3.) mais très peu de données épidémiologiques sont disponibles en médecine humaine et encore moins en médecine vétérinaire.

Quelques chiffres ont été annoncés et témoignent d'une **fréquence de survenue des dysfonctionnements plaquettaires lors de néoplasies, vraisemblablement importante** :

- chez l'Homme, **1/3** des patients atteints d'une macroglobulinémie de Waldenström et **15%** des patients atteints d'un myélome à Ig G souffrent d'un dysfonctionnement plaquettaire en "hypo" (défauts d'adhésion et d'agrégation plaquettaire) [53]
- **14%** des 53 chiens d'une étude atteints d'un processus tumoral montrent un état d'hypercoagulabilité par dysfonctionnement plaquettaire en "hyper" [109].

CONCLUSION

La thrombocytopénie est l'anomalie plaquettaire la plus fréquemment rencontrée lors de processus tumoral (avec une prévalence de 10% à 30% selon les études) et justifie à ce titre le suivi de la formule sanguine de tout patient ayant développé un processus tumoral. Elle est particulièrement associée aux tumeurs vasculaires (particulièrement l'hémangiosarcome) et aux tumeurs hématolymphopoïétiques et ceci par des mécanismes physiopathologiques différents (plutôt consommation excessive de plaquettes pour les premières et défaut de synthèse et dysfonctionnement plaquettaires pour les secondes - Cf. Chap. 2).

La thrombocytose existe lors de processus néoplasique (désordres myéloprolifératifs, quelques tumeurs solides) mais reste rare.

Les désordres plaquettaires qualitatifs sont nombreux et leur incidence est probablement sous-estimée compte tenu des difficultés de diagnostic en pratique vétérinaire quotidienne. Des recherches épidémiologiques restent donc à entreprendre dans ce domaine.

CHAPITRE 4 : PLAQUETTES, CROISSANCE TUMORALE ET PRONOSTIC DE LA MALADIE

INTRODUCTION

Des études expérimentales *in vitro* et *in vivo* ont suggéré que les plaquettes jouent un rôle dans la séquestration, l'adhérence et la pénétration des cellules tumorales à travers l'endothélium vasculaire. L'agrégation plaquettaire, qui peut être initiée par les cellules tumorales elles-mêmes, prévient l'élimination trop rapide des cellules cancéreuses de la circulation et permet la formation extravasculaire de nids de cellules tumorales, contribuant ainsi à la croissance tumorale et à la formation de métastases.

Un autre aspect de l'implication des plaquettes dans le processus tumoral est la recherche d'éventuels facteurs pronostiques. En effet, face à l'évolution des paramètres plaquettaires au cours de l'évolution du processus tumoral, évoquée dans les chapitres précédents, il a alors été question de savoir si certains paramètres plaquettaires pouvaient avoir une fonction pronostique.

1. Plaquettes et métastases

1.1. Pathogénie de la métastase

1.1.1. Les étapes de la formation d'une métastase

La formation d'une métastase est un processus hautement spécifique qui favorise la survie d'une sous-population mineure de cellules métastatiques qui pré-existent dans la masse tumorale primaire. Les étapes essentielles de la formation d'une lésion métastatique sont les suivantes [158] (Cf. Fig. 20 page 142) :

- après la **transformation initiale** unicellulaire ou multicellulaire, la croissance progressive des cellules tumorales est d'abord supportée par les nutriments présents dans le **microenvironnement** local

- **l'angiogenèse** survient ensuite lorsque la masse tumorale excède approximativement 2 mm de diamètre. La synthèse de facteurs de l'angiogenèse joue ici un rôle clef dans l'établissement d'un réseau capillaire du tissu environnant de l'hôte.

- **l'invasion locale** des tissus environnants connaît plusieurs mécanismes. Les tumeurs proliférant rapidement créent une pression mécanique qui pousse les cellules dans les aires de moindre résistance. Au contraire, les tumeurs qui grossissent dans les grandes cavités de l'organisme peuvent répandre des cellules qui viennent adhérer aux séreuses ou à d'autres organes, permettant ainsi l'expansion secondaire de la tumeur. Enfin, les cellules tumorales peuvent envahir les vaisseaux sanguins et lymphatiques ; cette voie est une voie majeure de la dissémination et est promue par la production d'enzymes lytiques comme les hydrolases lysosomiales et la collagénase de type IV, soit par la tumeur, soit par les cellules de l'inflammation de l'hôte. Il existe aussi une forte corrélation entre l'habileté de la tumeur à lier les composants de la membrane basale comme la fibronectine et la laminine et ses capacités métastatiques.

- une fois que la tumeur a rompu le stroma du système circulatoire, le détachement et **l'embolisation** de petits agrégats cellulaires tumoraux survient. La plupart de ces cellules sont détruites ; des études de radiomarquage ont montré qu'en réalité pour la plupart des tumeurs, moins de 0,1% des cellules tumorales entrées dans la circulation, survit pour former des métastases. Ainsi, la présence de cellules tumorales dans le sang ne signifie pas obligatoirement métastase. Les cellules tumorales circulantes sont plus sujettes aux défenses variées de l'organisme, immunitaires et non-immunitaires, comme le traumatisme

des cellules par les passages transcapillaires, la lyse par les lymphocytes, les monocytes et les cellules natural-killer (NK).

- les cellules tumorales doivent ensuite s'arrêter dans un lit capillaire à distance de l'organe initial en **adhérant**, soit aux cellules endothéliales, soit à la membrane basale sous-endothéliale exposée. L'adhésion des cellules tumorales à l'endothélium peut être **stimulée** par tout un ensemble de facteurs comme les **eicosanoïdes**, la **thrombine**, les **plaquettes** ...etc.

- **l'extravasation** survient ensuite, probablement par des mécanismes similaires à ceux qui ont permis l'invasion initiale.

- la survie et la **croissance** dans l'organe colonisé continue le processus métastatique. La métastase doit à son tour développer une vascularisation et échapper au système immunitaire. Après avoir atteint une certaine taille, elle pourra également donner naissance elle-même à d'autres métastases.

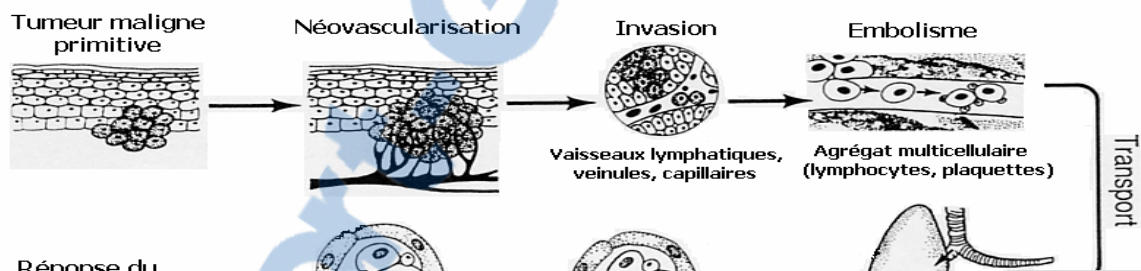


Fig. 20 : Schéma des séquences hautement spécifiques du processus métastatique [158].

Dans ce processus de la croissance et de la dissémination de la tumeur, **chaque étape décrite précédemment est obligatoire et indispensable.**

Différents facteurs interviennent dans la régulation de la croissance tumorale. Beaucoup de **facteurs promouvant la croissance tumorale** ont été identifiés, produits soit

par les cellules tumorales elles-mêmes, soit par les cellules de l'hôte dont les **plaquettes** (avec le PDGF, Cf. Tab. XXI, Cf. Chap. 4-1.3.1. page 148) :

Facteur de croissance	Récepteur	Action
Facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF)	PDGF-R	Prolifération du mésenchyme et du muscle lisse
Facteur de croissance épidermique (EGF) et TGFα	EGF-R	Croissance des cellules épidermiques
Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)	VEGF-R	Croissance des cellules endothéliales
Facteur de croissance fibroblastique (FGF)	FGF-R	Facteur proangiogénique
Facteur de croissance transformant de la famille β (TGF-β)	TGF- β -R (1-3)	Immunosuppresseur Inhibiteur de la prolifération cellulaire Proapoptosique
Facteurs de croissance insuline-like (IGF-1, IGF-11)	IGF-1R	Prolifération Antiapoptosique
Stem cell factor (SCF)	c-Kit	Croissance des mastocytes
Facteur de croissance hépatocytaire (HGF)	c-Met	Croissance du mésenchyme/ proangiogénique Croissance des cellules plasmatiques
Facteur Scatter (SF)		Promotion de la motilité
IL-7	IL-7R	Prolifération de toutes des cellules
IL-6	IL-6R	Prolifération des cellules hématopoïétiques
IL-8	IL-8R	Proangiogénique

Tab. XXI : Propriétés de quelques facteurs de croissance tumoraux [158]
En gras les facteurs pouvant être sécrétés, exclusivement ou entre autre, par les plaquettes.

1.1.2. L'angiogenèse tumorale [122]

Revenons sur ce point qui est une étape clef de la croissance et de la dissémination tumorale.

Dans les tissus normaux, la formation de nouveaux vaisseaux est régulée par de nombreux facteurs inhibiteurs et stimulateurs, l'ensemble formant une délicate balance (Cf. Tab. XXII page 144). Tout changement dans l'homéostasie tissulaire, physiologique ou

pathologique, peut perturber cette balance et résulter en l'acquisition d'un phénotype angiogénique.

Facteurs stimulant l'angiogenèse

Facteur de croissance fibroblastique (FGF)

Angiogénine

Héparinase

Facteur de croissance hépatocytaire

Facteur de croissance placentaire

Facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF)

Pléotropine

Prostaglandines E1, E2

Facteur de croissance transformant α (TGF α)

Facteur de croissance transformant β (TGF β)

Facteur de nécrose tumorale α (TNF α)

Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire/ facteur de perméabilité vasculaire

Facteurs inhibant l'angiogenèse

Angiostatine *

Inhibiteur dérivé du cartilage

Héparinase

IFN α

IFN β

Facteur plaquettaire 4

Fragment prolactine

Protamine

Thrombospondine

Inhibiteur tissulaire de métalloprotéinase

Tab. XXII : Régulateurs endogènes de l'angiogenèse

En gras, les facteurs sécrétés exclusivement ou entre autre, par les plaquettes.

* L'origine de l'angiostatine, principal inhibiteur de l'angiogenèse, est encore mal connue : cellules tumorales, macrophages, mastocytes ou cellules endothéliales?

Dans des études expérimentales et cliniques, une tumeur acquiert généralement des caractères malins, comme une croissance rapide et une capacité métastatique, lorsque on observe une augmentation de l'angiogenèse [154, 155].

Une étude récente d'une série de tumeurs mammaires canines, a montré l'existence d'une **plus grande densité de microvaisseaux dans les tumeurs malignes** [122], en accord avec ce qui avait été déjà trouvé chez l'Homme (Cf. Tab. XXIII).

Vaisseaux	Tumeurs	Tumeurs malignes			Valeur de p
	bénignes	Grade 1	Grade 2	Grade 3	
Nombre	24±4,3	43,3±7,1	63,2±1,9	110±24,2	0,0001
Aire	4±1,5	2,33±0,5	1,63±0,8	0,75±0,5	0,0002
Périmètre	0,27±0,02	0,26±0,06	0,19±0,04	0,15±0,04	0,0001

Tab. XXIII : Corrélation entre le nombre, l'aire et le périmètre des vaisseaux et le grade de différenciation des tumeurs mammaires [122].

La diminution de taille des vaisseaux observés dans les tumeurs malignes est une conséquence de l'augmentation de l'angiogenèse qui donne naissance à des vaisseaux nombreux mais petits et souvent anormaux.

☞ **Une évaluation de la taille des microvaisseaux peut donner une information sur le potentiel angiogénique (et donc le potentiel de croissance et de métastase) de la tumeur.**

Une hypothèse évoquée pour expliquer l'augmentation de l'angiogenèse est que, comme les mutations s'accumulent dans les tumeurs, certains clones de cellules tumorales mutent vers un phénotype angiogénique. La base moléculaire de cette mutation angiogénique n'est pas entièrement clarifiée, mais pourrait impliquer une augmentation des stimulateurs angiogéniques ou une diminution des inhibiteurs angiogéniques ou une combinaison des deux.

Plus précisément, la transformation maligne pourrait être liée à la perte de gènes suppresseurs codant pour des inhibiteurs de l'angiogenèse comme **l'angiostatine** ou la **thrombospondine-1** et à l'activation de gènes codant pour des inducteurs de l'angiogenèse comme le facteurs de croissance endothélial vasculaire (**VEGF**) ou le facteur de croissance fibroblastique (**FGF**) ou les deux.

☞ Une augmentation de l'angiogenèse est synonyme d'un risque accru de croissance et dissémination tumorales.

Il a donc été suggéré que l'inhibition de l'angiogenèse par l'administration d'agents tels des anticorps anti-intégrine vasculaire $\alpha v \beta 3$ (intégrine nécessaire à l'interaction entre l'endothélium et la matrice extra-cellulaire ; des anticorps dirigés contre cette intégrine inhibent alors la migration des cellules endothéliales et induisent leur apoptose, bloquant la néovascularisation tumorale) ou l'angiostatine (principal inhibiteur de l'angiogenèse) pourrait prévenir la croissance de cellules tumorales et leur métastases [48]. Ces agents se montrent prometteurs pour l'avenir.

▶ Plaquettes et angiogenèse tumorale

Les plaquettes favorisent l'angiogenèse tumorale par la sécrétion de facteurs de croissance, comme le PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes, mitogénique pour les cellules mésenchymateuses, fibroblastiques et musculaires lisses, Cf. ci-après 1.3.1.), le VEGF (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire), le FGF (facteur de croissance fibroblastique), les prostaglandines E, le TGF (facteur de croissance transformant) et une activité IL-8-like (Cf. Tab. XXI).

Le VEGF est un mitogène spécifique des cellules endothéliales. Son expression est augmentée dans les cellules tumorales et les mégacaryocytes. Des études récentes suggèrent que le VEGF est stocké dans les plaquettes ; ces dernières préviendraient la formation de nouveaux vaisseaux sanguins par le VEGF, excepté sur les sites où se déroule la coagulation et où le VEGF est alors libéré. La concentration de VEGF serait de plus régulée par l'interleukine IL-6 (les taux sériques d'IL-6 sont corrélés aux taux sériques de VEGF [128]) ; ceci contribue à expliquer la stimulation de la croissance tumorale lors d'administration d'interleukine IL-6 et la dégradation du pronostic des patients cancéreux présentant des concentrations sériques élevées d'IL-6 [150].

Mais tous les auteurs ne sont pas d'accord quant à la fonction de l'IL-6. Deux publications attribuent au contraire à l'IL-6 une action potentiellement anti-cancéreuse. La première étude montre que l'inhibition de la formation de métastases pulmonaires chez les souris porteuses d'un cancer du colon est étroitement associée avec une augmentation du taux sérique d'IL-6 [75]. Une autre publication s'intéressa au neuroblastome, une tumeur caractérisée par la surexpression quasi-exclusive de l'oncogène N-Myc. Il fut montré que la

surexpression de N-Myc résultait en une inhibition de l'activité de l'IL-6, coïncidant avec une stimulation de l'angiogenèse [66].

Le rôle exact de l'IL-6 (facteur angiogénique ou au contraire anti-angiogénique?) n'est donc pas encore clairement défini et cette interleukine est actuellement l'objet de recherches attentives.

1.2. Activation des plaquettes par les cellules tumorales

Nous avons vu dans le chapitre précédent (Cf. Chap. 3- 3.2.2 page 114) que les cellules tumorales sont capables d'induire l'agrégation plaquettaire principalement *via* des médiateurs solubles comme la *thrombine* et l'*ADP* ou par *interaction directe* entre les surfaces des plaquettes et des cellules tumorales [67, 73, 144, 147].

Deux mécanismes principaux de génération de la **thrombine** par les cellules tumorales ont été décrits :

- **l'activité thromboplastine** (facteur tissulaire) des cellules tumorales
- **le procoagulant tumoral**, une cystéine protéase (cathepsine-B-like qui active directement le facteur X.

Ces mécanisme aboutissent à la formation excessive de thrombine, puissant activateur plaquettaire et formateur de fibrine.

Les cellules tumorales peuvent aussi induire l'agrégation plaquettaire par une interaction membranaire directe.

Différentes tumeurs possèdent **des molécules d'adhésion cellulaires incluant des intégrines réceptrices, immunologiquement semblables aux glycoprotéines plaquettaires α I**b β 3 (I**b/III**a)** (liant fibrinogène, fibronectine, facteur Von Willebrand, vitronectine et thrombospondine) et **Ib** [14, 26] (liant le facteur Von Willebrand).**

☞ **Ces molécules d'adhésion tumorales jouent non seulement un rôle dans l'activation de l'agrégation plaquettaire mais aussi vraisemblablement dans l'adhésion aux surfaces endothéliales et sous-endothéliales, élément capital de la prolifération des cellules tumorales** (précisons que le récepteur Gp I**b/III**a-like n'intervient pas dans l'adhésion primitive à l'endothélium mais secondairement lorsque les cellules tumorales ont été stimulées par différents facteurs comme la thrombine ou les plaquettes [25]).

Des **gangliosides** de la membrane des cellules tumorales ont récemment été découverts et peuvent également interagir avec la surface des plaquettes et induire leur activation.

☞ Initialement, quelques plaquettes adhèrent aux cellules tumorales qui les activent alors. Ceci entraîne le recrutement de plaquettes supplémentaires et la formation d'agrégats localisés de plaquettes activées et dégranulées attachées à la surface tumorale. Les cellules tumorales répondent aux plaquettes activées par l'apparition de processus cellulaires qui s'infiltrèrent dans les agrégats plaquettaires, traduisant des altérations de leur cytosquelette.

1.3. Promotion de la dissémination tumorale par les plaquettes

Depuis plus de cent ans, l'activation de la cascade de la coagulation est connue pour faire partie du processus malin. En 1878, Billroth pense que la dissémination de la tumeur peut s'effectuer par la **circulation de thrombi comportant des cellules tumorales**. En 1962, Gasic montre que l'injection de neuraminidase chez la souris induit une thrombocytopenie et réduit l'incidence de métastases pulmonaires lors d'adénocarcinome mammaire ; les métastases seraient mêmes proportionnelles à la numération plaquettaire. **Un sérum antiplaquettaire réduit de façon marquée l'incidence des tumeurs pulmonaires produites par l'injection I.V. de 3 différentes tumeurs murines** (adénocarcinome du colon CT26, carcinome pulmonaire de Lewis et le mélanome B16) **et aussi réduit significativement les métastases pulmonaires produites par des greffes sous-cutanées de carcinome pulmonaire de Lewis**. Enfin, on montra qu'une **corrélation existe entre la capacité d'une tumeur à induire l'agrégation plaquettaire *in vitro* et sa capacité à métastaser *in vivo*** [14].

1.3.1. Mécanismes de renforcement du processus de croissance et de dissémination tumorale par les plaquettes

Différents mécanismes ont été proposés par lesquels les plaquettes renforcent l'oncogénèse et le processus métastatique. L'activation des plaquettes, en majeure partie par les cellules tumorales elles-mêmes, permet :

- la formation d'un bouclier protecteur de fibrine autour des cellules tumorales, permettant aux cellules tumorales d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte [22, 56]

- la libération du contenu des granules α plaquettaires qui peuvent augmenter l'adhésion des cellules tumorales ou leur croissance ; ce sont la thrombospondine, la fibronectine, le facteur Von Willebrand, le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) et le fibrinogène [89, 148].

► **PDGF et croissance tumorale**

Le facteur de croissance dérivé des plaquettes est libéré dans le sang par les granules α après activation plaquettaire (il peut également être libéré par les mégacaryocytes) ; il est un puissant mitogène pour les cellules mésenchymateuses et il joue un rôle important dans la **réparation tissulaire** en tant que facteur **chimiotactique** et **mitogénique** pour les monocytes, les neutrophiles, les cellules musculaires lisses et les fibroblastes (Cf. Chap.1- 5.1. page 49).

De plus, des extraits de plaquettes humaines stimulent la multiplication de cellules tumorales mammaires de rat ainsi que de nombreuses autres lignées cancéreuses. Ce même facteur renforcerait le processus métastatique *in vivo* en exerçant un effet stimulant de la croissance sur les embolus tumoraux.

Une large portion du PDGF humain s'est montrée comme étant grandement **homologue à la protéine transformante du virus sarcomateux simien (SSV)**, un rétrovirus qui produit des sarcomes chez le singe. Ceci suggère que **l'activité de croissance exacerbée** des cellules transformées-SSV pourrait être liée à l'expression de gènes codant pour une protéine homologue du PDGF [69].

Le rôle des plaquettes dans l'oncogenèse et le processus métastatique intervient également dans :

- l'aide directe des plaquettes dans l'attachement des cellules tumorales à l'endothélium vasculaire ou au sous-endothélium [103]
- la sécrétion de médiateurs, en particulier l'acide 12-hydroxy-eicosatétraénoïque (HETE) qui renforce la rétraction des cellules endothéliales induite par les cellules tumorales, ce qui **facilite l'extravasation des cellules tumorales** en exposant la matrice sous-endothéliale à l'adhésion des cellules tumorales et à sa protéolyse [72].

L'arrêt initial des cellules tumorales dans la microvascularisation n'est probablement pas plaquette-dépendant ; il nécessite la juxtaposition des membranes

plasmiques des cellules tumorales et endothéliales. **L'interaction des plaquettes avec les cellules tumorales ne survient que dans les 24 heures après l'arrêt et le logement des cellules tumorales dans un lit capillaire**, suggérant que les facteurs tumoraux responsables de l'activation plaquettaire ne sont exprimés que de façon transitoire. Vingt-quatre heures après arrêt, beaucoup de tumeurs restent intravasculaires, sans association avec des thrombi plaquettaires. **L'activation plaquettaire coïncide avec l'initiation de la rétraction des cellules endothéliales.**

☞ **Les premières 24 heures** après l'arrêt de cellules tumorales dans un lit capillaire, **sont critiques** pour l'établissement de la contribution plaquettaire au processus métastatique.

☞ Les plaquettes sont, en résumé, capables de :

- renforcer l'adhésion des cellules tumorales à l'endothélium ou au sous-endothélium (mais sans intervenir dans la phase primitive de l'arrêt et l'adhésion) par les produits de sécrétion des granules α et par une interaction directe surface plaquettaire - surface cellulaire tumorale
- faciliter l'extravasation des cellules tumorales par la sécrétion de HETE
- promouvoir la croissance et l'angiogenèse tumorale par, entre autres, le PDGF, **conférant aux plaquettes une véritable activité mitogène tumorale**
- former une coque protectrice d'agrégats plaquettaires et de fibrine autour des cellules tumorales, permettant leur échappement au système immunitaire de l'hôte.

Soulignons que l'agrégation plaquettaire et la formation de fibrine ne sont pas obligatoires pour la formation de métastase mais en augmentent l'incidence.

1.3.2. Les anti-plaquettaires en tant qu'agents anti-métastatiques

C'est tout naturellement qu'a été émise l'idée de l'utilisation d'agents anti-plaquettaires pour prévenir la formation de métastases, compte tenu du rôle attribué aux plaquettes dans la croissance et la dissémination tumorales, décrit précédemment. Les résultats des études expérimentales et cliniques sont variables. L'inconstance de ces résultats semble pouvoir être attribuée à la variété des types tumoraux testés ainsi qu'aux molécules employées.

Les différentes classes d'anti-plaquettaires ont été décrites dans le chapitre 2 (Cf. Chap. 2-3.4.1. page 119).

► **PGI2**

Un des moyens par lequel l'endothélium vasculaire normal inhibe la formation de métastases est la production de prostaglandine I2, puissant inhibiteur plaquettaire. Mais les cellules tumorales et les plaquettes peuvent diminuer la production de PGI2 (Cf. Chap. 1- 1.2.2.) et augmenter la production de thromboxane.

☞ Un ratio PGI2/thromboxane altéré a été même détecté dans l'urine et le plasma de patients humains atteints de cancers différents [14].

La quantité de PGI2 artérielle produite fut mesurée chez des patients humains sains et des patients présentant des tumeurs osseuses bénignes et malignes ; *les patients atteints d'un processus cancéreux malin furent ceux présentant le taux de PGI2 le plus bas* [62, 100].

Pour cette raison, **la prostaglandine PGI2 et ses analogues** ont été évalués en tant qu'agents anti-métastatiques. Il y a une vingtaine d'années, une étude encourageante observa que l'administration de prostaglandine PGI2 réduisait de façon notable le nombre de métastases résultant de l'administration de cellules de mélanome B16 chez le rat [132]. Cet effet est potentialisé par l'administration simultanée de **théophylline**, un inhibite

métastatiques. Le mécanisme aujourd'hui reconnu est **un effet indirect par inhibition des interactions entre les cellules de l'hôte et de la tumeur** (comme la diminution de l'agrégation plaquettaire induite par les cellules tumorales, l'inhibition de l'adhésion des cellules tumorales à l'endothélium ou l'inhibition de la rétraction des cellules endothéliales induite par les cellules tumorales...) [132].

▶ Les AINS

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont connus pour exercer une activité anti-angiogénique et anti-métastatique *in vitro* et *in vivo* [77, 83]. Les mécanismes impliqués sont divers : inhibition de la cyclooxygénase (surtout Cox-2), inhibition de la production de lymphokines, régulation de l'expression du gène codant pour le TNF- α , inhibition de la formation de carcinogènes, effets anti-angiogéniques (via la suppression de l'activité métalloprotéinase, molécule impliquée dans la migration et l'adhésion des cellules endothéliales) **ainsi que l'inhibition de l'agrégation plaquettaire** [158]. Mais malgré cela, les AINS n'augmentent pas la survie des patients cancéreux de manière significative.

▶ Autres agents

Des agents plus directs comme *les peptides RGD et les dysintégrines* ont également été testés. **Ces composés, en se liant aux plaquettes et en entraînant l'inhibition de l'agrégation ainsi que l'inhibition de leur adhésion aux cellules tumorales, diminuent la formation de métastases** [6, 14].

☞ L'utilisation d'anti-plaquettaire est un moyen d'altérer le micro-environnement fourni par l'hôte pour la croissance tumorale et peut être envisagée comme une forme supplémentaire de thérapie anti-cancéreuse.

1.3.3. Inhibition de l'interaction plaquette - cellule tumorale par l'héparine

L'héparine a depuis longtemps été proposée comme un agent thérapeutique permettant de lutter contre les états d'hypercoagulabilité souvent présents lors de cancer. Son effet anti-métastatique a aussi été montré et jusqu'à récemment cet effet était attribué à l'action

anticoagulante de l'héparine. Une étude récente *in vivo* sur des souris, dont le protocole est fondé sur l'administration IV de 100 UI d'héparine 30 minutes avant l'injection I.V. de cellules carcinomateuses, a précisé le mécanisme d'action de l'héparine [13]. Il a été montré que la liaison des plaquettes aux cellules tumorales se fait essentiellement entre une molécule de P-sélectine plaquettaire et un ligand tumoral de mucine (toutefois certains types cellulaires tumoraux ne présentent pas de ligand mucine). L'héparine vient inhiber cette liaison mais uniquement de façon transitoire, durant environ **5 heures ; l'injection unique de 100 UI d'héparine parvient à diminuer, de façon transitoire, l'association plaquettes-cellules tumorales d'environ 10% par rapport aux témoins.**

Bien que la diminution de l'interaction plaquettes-cellules tumorales ne soit que transitoire, **à long terme (6 semaines), les souris traitées à l'héparine présentent moins de métastases pulmonaires que les animaux témoins et les résultats sont identiques à ceux de souris délétées en P-sélectine.**

☞ L'interaction précoce plaquettes-cellules tumorales est donc en corrélation avec le développement tardif de métastases ; l'héparine, en tant qu'agent inhibiteur transitoire de cette interaction cellulaire, est vue aujourd'hui sous un nouveau jour pour son action anti-métastatique autre qu'anti-coagulante.

2. Paramètres plaquettaires et pronostic d'un processus tumoral

Différentes études ont été menées chez l'Homme, plus rarement chez le chien.

En médecine vétérinaire, une seule étude récente existe et celle-ci a mis en évidence **une corrélation entre les anomalies de l'hémostase et le stade de la tumeur et ses caractéristiques**, chez des chiens atteints de carcinome mammaire [140]. Chez l'Homme la plupart des études réalisées à ce sujet [2, 40, 117, 123, 125] corrobore les résultats obtenus en médecine vétérinaire ; seule une étude ne trouva pas de corrélation entre les anomalies de l'hémostase et la progression des tumeurs (carcinomes mammaires et mélanomes malins) mais les patients à un stade très avancé voire terminal de la maladie ne furent pas inclus dans l'étude [96].

Seuls deux paramètres plaquettaires ont réellement été démontrés comme pouvant servir d'indicateurs pronostiques ; ce sont la numération plaquettaire et la mesure de la demi-vie plaquettaire.

2.1. La numération plaquettaire

Une étude récente [134] s'est intéressée à l'impact de la numération plaquettaire préopératoire sur le taux de survie de patients humains opérés d'un adénocarcinome autour de l'ampoule de Vater. Les numérations plaquettaires préopératoires de 49 patients devant subir une chirurgie résectrice (28 pour un adénocarcinome pancréatique, 12 pour un adénocarcinome duodénal et 9 pour un adénocarcinome du conduit biliaire), ont ainsi été examinées. La numération plaquettaire préopératoire médiane est de 308 000 plaquettes/mm³ (104 000 à 547 000) et **une numération plaquettaire inférieure à 300 000 plaquettes/mm³ a été corrélée à une diminution de la médiane de survie (13 mois contre 33 mois, p<0,02).**

D'autres études vont en ce sens : une étude concernant 116 patients humains atteints d'un myélome multiple montra qu'une numération plaquettaire inférieure à 100 000 plaquettes/mm³ était associée à un mauvais pronostic [79]. Une autre étude rétrospective de 144 patients à cancer du pancréas [97] mit en évidence une survie significativement meilleure (p<0,05) chez les patients présentant une numération plaquettaire supérieure à 200 000 plaquettes/mm³ et très significativement meilleure (p<0,001) pour une numération plaquettaire supérieure à 300 000 plaquettes/mm³, pour des patients dont on pensait que la chirurgie serait curative ; les patients opérés de façon palliative (maladie plus avancée) ne montrèrent pas de différence significative entre leur numération plaquettaire et leur temps de survie.

Comme la thrombocytopénie, la thrombocytose a également été corrélée à un mauvais pronostic. Une étude statistique a été effectuée sur le carcinome ovarien, dont la prévalence de la thrombocytose a été évaluée à 24,3% (contre 2,9% pour les tumeurs bénignes à p<0,06). **La thrombocytose est ainsi significativement corrélée (p<0,04) à un mauvais pronostic, à une diminution du temps de survie** [102]. La même conclusion (diminution du temps de survie lors de thrombocytose p<0,0001) a été émise pour certains types de cancers pulmonaires où la thrombocytose survient dans 23% des tumeurs gradées TNM (Tumor Node Metastasis) I et II et dans 37% des tumeurs gradées TNM III [112].

☞ La numération plaquettaire est indéniablement un véritable facteur pronostique de la maladie tumorale et ceci aussi bien lorsque l'on se trouve face à une thrombocytopénie qu'à une thrombocytose.

2.2. La mesure du turn-over plaquettaire

Nous avons vu dans le chapitre 2 (1.2.2. page 79) que **le turn-over plaquettaire est directement corrélé à l'extension et au type histologique de la tumeur** : la demi-vie moyenne plaquettaire a été évaluée à $5,4 \text{ j} \pm 0,1$ chez les chiens normaux contre $3,5 \text{ j} \pm 0,2$ chez les chiens présentant une affection tumorale. De plus, le temps de survie lors de tumeurs métastasées est significativement ($p < 0,05$) plus court ($3,2 \text{ j} \pm 0,3$) que celui évalué lors de tumeurs locales ($4,4 \text{ j} \pm 0,2$) [109].

La mesure du turn-over plaquettaire est donc un **paramètre pronostique fiable**. Les mesures sont effectuées par marquage au chrome 51 ou à l'indium 111 (voire la 75-sélénométhionine ou le DF32-P) en attendant des techniques non isotopiques comme celle à la malono-dialdéhyde [99], ce qui reste encore **peu accessible** pour le praticien vétérinaire.

2.3. Autres paramètres

Il a été montré chez l'Homme que **la quantité d'anti-corps circulants anti-plaquettaires** pouvait être mise en corrélation avec la taille de la tumeur et le stade clinique de la maladie (Cf. Chap. 2- 1.2.1.3. page 76) ; **des concentrations faibles de complexes immuns circulants ont même été associées avec une réponse favorable au traitement entrepris** [34]. Ce paramètre est donc prometteur d'autant plus que le dosage des anti-corps anti-plaquettaires est disponible depuis peu pour le praticien vétérinaire.

D'autres paramètres spécifiquement plaquettaires en tant qu'indicateurs pronostiques, sont actuellement à l'étude comme le **facteur plaquettaire 4 (FP-4)** et la **β -thromboglobuline** qui sont des marqueurs d'une hypercoagulabilité. Le potentiel pronostique de la mesure de **l'agrégabilité plaquettaire** est également étudié. En effet, l'activation du système de la coagulation est un phénomène *précoce* dans la croissance tumorale et en cela, ces paramètres sont prometteurs. Néanmoins, nous avons vu dans le chapitre 2 (3.1. page 101)

que l'activité plaquettaire pouvait également être inhibée, rendant ainsi la mesure d'agrégométrie d'interprétation difficile.

Les autres paramètres non-plaquettaires de l'hémostase (TP, TTPA, TT, fibrinogène, fibrine, PDF, AT III, activité plasmatiques des facteurs V, VIII et X) peuvent être également utilisés en tant qu'indicateurs pronostiques.

Conclusion

Les plaquettes sont directement impliquées dans la croissance et la dissémination tumorale. Dans certains rapports, une relation directe a été établie entre la capacité de la tumeur d'induire l'agrégation plaquettaire et son potentiel métastatique [59, 101], tandis que dans d'autres études, cette corrélation n'a pas été observée [41, 81]. Les raisons de cette contradiction n'ont pas été encore bien comprises. Quoiqu'il en soit, l'agrégation plaquettaire reste un caractère déterminant du processus métastatique et les antiplaquettaires sont donc des agents anti-métastatiques potentiels.

Les paramètres plaquettaires fournissent de bons indicateurs pronostiques mais leur importance clinique reste mal définie : ils **ne préjugent en rien de la clinique** (syndrome hémorragique ou thrombotique) tout comme le reste des paramètres de l'hémostase.

CONCLUSION

Les désordres qualitatifs et quantitatifs plaquettaires constituent le groupe le plus importants des anomalies hémostatiques présentées par les patients cancéreux.

L'évaluation régulière de la numération et de la fonction plaquettaires doit donc absolument faire partie du suivi du patient cancéreux. Certains paramètres plaquettaires gagneraient à être évalués en médecine vétérinaire compte-tenu de leur caractère pronostique (demi-vie plaquettaire). Toutefois, il n'est pas toujours possible de relier les résultats des examens de laboratoire à la clinique du malade.

Les recherches concernant l'implication des plaquettes dans le processus métastatique sont prometteuses quant à l'apport de nouvelles approches thérapeutiques du cancer. Il reste malgré tout encore beaucoup à faire, notamment dans la compréhension des mécanismes moléculaires de l'interaction précoce des plaquettes avec les cellules tumorales.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ANTMAN K.H., SKARIN A.T., MAYER R.J., et al. Microangiopathic hemolytic anemia and cancer : a review. *Medicine*, 1979, 58, 377-384.
- 2- AUGER M.J., MACKIE M.J. Monocyte procoagulant activity in breast cancer. *Thromb. Res.*, 1987, 42, 77-84.
- 3- AUSPRUNK D. H., FOLKMAN J., Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc. Res.*, 1977, 14, 53-65.
- 4- BERKMAN A. W., KICKLER T., BRAINE H., Platelet-associated Ig G in patients with lymphoma. *Blood*, 1984, 63, 944-948.
- 5- BERKMAN M.C., KABRAL A., et al. An acquired Bernard-Soulier-like platelet defect associated with juvenile myelodysplastic syndrome. *Br. J. Haematol.*, 1988, 68, 97-101.
- 6- BEVIGLIA L., STEWART G.J., NIEWIAROWSKI S. Effect of four disintegrins on the adhesive and metastatic properties of B16F10 melanoma cells in a murine model. *Oncol. Res.*, 1995, 7, 7.
- 7- BICK R.L. Alterations of hemostasis associated with malignancy : etiology, pathophysiology, diagnosis and management. *Semin. Thromb. Hemost.* 1978, 1, 5.
- 8- BICK R.L. Alterations of hemostasis in malignancy, in Bick R.L., Bennet J.M., Brynes R.K. (ed), *Hematology : clinical and laboratory practice*. St Louis, Mosby, 1993, p 1583.
- 9- BICK R.L. Alterations of hemostasis in malignancy, in *Disorders of thrombosis and haemostasis : clinical and laboratory practice*, Chicago, ASCP Press, 1992, p 239.

- 10-BICK R.L. Disseminated intravascular coagulation and related syndromes. A review. *Semin. Thromb. Haemost.*, 1988, 14, 299-330.
- 11-BICK R.L., STRAUSS J.F., FRENKEL E.P. Thrombosis and hemorrhage in oncology patients. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 1996, 10 (4), 876-907.
- 12-BLAJCHMAN M.A., SENYI A.F., HIRSH J., GEORGE J.N. Hemostatic function, survival and membrane glycoprotein changes in young versus old rabbit platelets. *J. Clin. Invest.*, 1981, 68, 1289.
- 13-BORSING L., WONG R., FERAMISCO J. et al. Heparin and cancer revisited : mechanistic connections involving platelets, P-selectin, carcinoma mucins and tumor metastasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 13, 98 (6), 3352-3357.
- 14-BOUDREAUX M.K. Platelets and coagulation. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1996, 26 (5), 1065-1087.
- 15-BOUGHTON B., ALLINGTON M., KING A., Platelet and plasma β -thromboglobulin in myeloproliferative syndromes and secondary thrombocytosis. *Br. J. Haematol.*, 1978, 40, 125-132.
- 16-BROXMEYER H. E., Acidic isoferritins as suppressor molecules [letter]. *Blood*, 1986, 68, 796-797.
- 17-BROXMEYER H. E., JACOBSEN N., KURLAND J., et al. In vitro suppression of normal granulocytic stem cells by inhibitory activity derived from human leukemia cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 1978, 60, 497-511.
- 18-BROXMEYER H.E., GROSSBARD E., JACOBSEN N., et al. Persistence of inhibitory activity against normal bone marrow cells during remission of acute leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 1979, 301, 346-351.
- 19-BURTON S. A., HONOR D. J., The role of platelets in inflammation and body defense. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 1991, 13 (7), 1129-1137.

- 20-CAIN G. R., FELDMAN B. F., KAWAKAMI T. G., JAIN N. C., Platelet dysplasia associated with megakaryoblastic leukemia in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, 188 (5), 529.
- 21-CAMPBELL K. L., GEORGE J. W., GREENE C. E., Application of the enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of platelet antibodies in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1984, 45 (12), 2561-2564.
- 22-CARDINALI M., UCHINO R., CHUNG S.I. Interaction of fibrinogen with murine melanoma cells : covalent association with cell membranes and protection against recognition by lymphokine-activated killer cells. *Cancer Res.*, 1990, 50, 8010-8016.
- 23-CHABANNE L. et al. Clinical applications of flow cytometry and cell immunophenotyping to companion animals (dogs and cats). *Methods in cell science*, 22(2-3) : 199-207, 2000.
- 24-CHISHOLM-CHAIT A. Mechanisms of thrombocytopenia in dogs with cancer. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 2000, 22 (11), 1006-1017.
- 25-CHOPRA H., FLIGIEL S.E.G., HATFIELD J.S. et al. An in vivo study of the role of the tumor cell cytoskeleton in tumor-cell-platelet-endothelial cell interactions. *Cancer Res.*, 1990, 50, 7686-7696.
- 26-CLEZARDIN P., DROUIN J., MOREL-KOPP M., et al. Role of platelet membrane glycoproteins Ib/IX and Iib/IIIa and of platelet α granule protein in platelet aggregation induced by human osteosarcoma cells. *Cancer Res.*, 1993, 53, 4695-4700.
- 27-CLEZARDIN P., MacGREGOR J.C., et al. Platelet membrane gp abnormalities in patients with myeloproliferatives disorders and secondary thrombocytosis. *Br. J. Haematol.*, 1985, 60, 331.
- 28-COLEMAN R.W., RUBIN R.N. Disseminated intravascular coagulation due to malignancy. *Semin. Oncol.*, 1990, 17, 172-186.

- 29- COLLER B. S.. Platelets and thrombolytic therapy. *N. Engl. J. Med.*, 1990, 332 (1), 33-42.
- 30- COUTO C.G., KALLET A.J. Preleukemic syndrome in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1984, 184, 1389-1392.
- 31- DALE G.L., FRIESE P., HYNES L.A., BURSTEIN S.A. Demonstration that thiazole-orange-positive platelets in the dog are less than 24 hours old. *Blood*, 1995, 85, 1822.
- 32- DAVENPORT D. J., BREITSCHWERDT E. B., CARAKOSTAS M. C., Platelets disorders in the dog and cat Part I : physiology and pathogenesis. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 1982, 4 (9), 762-771.
- 33- DAVENPORT D.J., BREITSCHWERDT E.B., CARAKOSTAS M.C. Platelet disorders in the dog and the cat. Part II. Diagnosis and management. *Compend. Contin. Edu. Pract. Vet.*, 1982, 4 (10), 788-796.
- 34- DeBOER D. J., MADEWELL B. R., Detection of immune complexes in serum of dogs with neoplastic disease by solid-phase C1q binding, using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, 44 (9), 1710-1713.
- 35- DeBRUYERE M., SOKAL G., DEVOITILLE J.M., et al. Autoimmune haemolytic anemia and ovarian tumor. *Br. J. Haematol.*, 1971, 20, 83-94.
- 36- Dictionnaire du Vidal. 76^{ème} éd. Paris 2000.
- 37- DiMINNO G., CORAGGIO F., CERBONE A.M. et al. A myeloma paraprotein with specificity for platelet gp IIIa in a patient with a fatal bleeding disorder. *J. Clin. Invest.*, 1986, 77, 157-164.
- 38- DOLIGER S. Cancers et troubles de l'hémostase. *Point Vét.*, 1996, 28, 721-727.
- 39- EDWARDS D. F., Bone marrow hypoplasia in a feminized dog with a sertoli cell tumor. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1981, 178 (5), 494-496.

- 40- EDWARDS R.L., RICKLES F.R., MORITZ T.E., HENDERSON W.G. et al. Abnormalities of blood coagulation tests in patient with cancer. *Am. J. Clin. Path.*, 1987, 88, 596-602.
- 41- ESTRADA J., NICOLSON G.L. Tumor-cell-platelet aggregation does not correlate with metastatic potential of rat 13762NF mammary adenocarcinoma tumor cell clones. *Int. J. Cancer*, 1984, 34, 101-105.
- 42- FABRIS F., CASONATO A., DeIBEN M.G. Abnormalities of von Willebrand factor in myeloproliferative disease : a relationship with bleeding diatheses. *Br. J. Haematol.* 1986, 63, 75.
- 43- FELDMAN B. F., ZINKL J.G., JAIN N. C., *Schalm's Veterinary Hematology*. Ed. Lippinott, Williams and Wilkins, 2000, chap. 63, 448-452.
- 44- FELDMAN B. F., ZINKL J.G., JAIN N. C., *Schalm's Veterinary Hematology*. Ed. Lippinott, Williams and Wilkins, 2000, chap. 83, 565-570.
- 45- FELDMAN B.F. Coagulopathies in small animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1981, 179, 559-563.
- 46- FELDMAN B.F., THOMASON K.J., JAIN N.C. Quantitative platelet disorders. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1988, 18 (1), 35-51.
- 47- FERNANDEZ F., GOUDABLE C., SIE P. et al. Low haematocrit and prolonged bleeding time in uraemic patient : effect of red cells transfusion. *Br. J. Haematol.*, 1985, 59, 139-148.
- 48- FIDLER I.J., ELLIS L.M. The implications of angiogenesis for biology and therapy of cancer metastasis. *Cell*, 1994, 79, 185-188.
- 49- FURIC F., HERIPRET D., OLIVRY T. La coagulation intra-vasculaire disséminée chez le chien. 1^{ère} partie : rappels théoriques. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1992, 6, 753-764.

- 50-FURIC F., HERIPRET D., OLIVRY T. La coagulation intra-vasculaire disséminée chez le chien. 2^{ème} partie : étude rétrospective de 20 cas cliniques. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1993, 1, 53-62.
- 51-GENTRY P. A., The mammalian blood platelet : its role in haemostasis, inflammation and tissue repair. *J. Comp. Path.*, 1992, 107, 243-270.
- 52-GEORGE J. N., Platelet immunoglobulin G : its significance for the evaluation of thrombocytopenia and for understanding the origin of α -granule proteins. *Blood*, 1990, 76 (5), 859-870.
- 53-GEORGE J. N., SHATTIL S. J., The clinical importance of acquired abnormalities of platelet function. *N. Engl. J. Med.*, 1991, 324 (1), 27-39.
- 54-GOLD H.K., YASUDA T. et al. Animal models for arterial thrombolysis and prevention of reocclusion. Erythrocyte-rich versus platelet-rich thrombus. *Circulation*, 1991, 83 (6 suppl.), IV, 26-40.
- 55-GORDON S. Cancer cell procoagulants and their implications. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 1992, 6 (6), 1359.
- 56-GORELIK E., BERE W.W., HERBEMAN R.B. Role of NK cells in the metastatic effect of anticoagulant drugs. *Int. J. Cancer*, 1984, 33, 87.
- 57-GREEN G., THOMAS B. Hemostatic disorders : coagulopathies and thrombosis. Ettinger, Feldman. *Textbook of veterinary internal medicine*. 4th Ed. Philadelphia, WB Saunders, 1995, 1941-1963.
- 58-GREENE C.E. et al. Vincristine in the treatment of thrombocytopenia in five dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1982, 18, 140-143.
- 59-GRIGNANI G., PACCHIARINI L., ALMASIO P. et al. Characterization of the platelet-aggregating activity of cancer cells with different metastatic potential. *Int. J. Cancer*, 1986, 38, 237-244.

- 60-GRINDEM C. B., BREITSCHWERDT E. B., CORBETT W. T., PAGE R. T., JANS H. E. Thrombocytopenia associated with neoplasia in dogs. *J. Vet. Int. Med.*, 1994, 8, 400-405.
- 61-GRINDEM C.B., BREITSCHWERDT E.B., CORBETT W.T., JANS H.E. Epidemiologic survey of thrombocytopenia in dogs : a report on 987 cases. *Vet. Clin. Path.*, 1991, 20 (2), 38-43.
- 62-HAMILTON H.B., WITHROW S.J. Antiplatelet therapy : a possible new therapeutic modality for controlling metastasis. *Compend. Contin. Ed. Pract. Vet.*, 1985, 7, 907-912.
- 63-HAMMER A. S., COUTO C. G., SWARDSON C., GETZY D., Hemostatic abnormalities in dogs with hemangiosarcoma. *J. Vet. Int. Med.*, 1991, 5, 11-14.
- 64-HANDAGAMA P., FELDMAN B.F. Thrombocytopenia and drugs. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1988, 18, 1, 51-65.
- 65-HARVEY J. W., Myeloproliferative disorders in dogs and cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 1981, 11 (2), 349-373.
- 66-HATZI E., MURPHY C. et al. N-myc oncogene overexpression down-regulates IL-6 ; evidence that IL-6 inhibits angiogenesis and suppresses neuroblastoma tumor growth. *Oncogene*, 2002, 16, 21 (22), 3552-3561.
- 67-HEINMOLLER E., WEINEL R.J., HEIDTMANN H.H., et al. Studies on tumor-cell-induced platelet aggregation in human lung cancer cell lines. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 1996, 122, 735-744.
- 68-HELFAND S. C., COUTO C. G., MADEWELL B. R., Immune-mediated thrombocytopenia associated with solid tumors in dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 1985, 21, 787-794.
- 69-HELFAND S. C., Platelets and neoplasia. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 1988, 18 (1), 131-156.

- 70-HISASUE M., OKAYAMA H. et al. Hematologic abnormalities and outcome of 16 cats with myelodysplastic syndromes. *J. Vet. Int. Med.*, 2001, 15, 471-477.
- 71-HOMANS A. C., COHEN J. L., BARKER B.E., MAZUR E.M., Aplastic presentation of acute lymphoblastic leukemia : evidence for cellular inhibition of normal hematopoietic progenitors. *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 1989, 11 (4), 456-462.
- 72-HONN K.V., GROSSI I.M., DIGLIO C.A. Enhanced tumor cell adhesion to the subendothelial matrix resulting from 12(S)-HETE-induced endothelial cell retraction. *FASEB J.*, 1989, 3, 2285.
- 73-HONN K.V., TANG D.G., CHEN Y.Q. Platelets and cancer metastasis, more than an epiphenomenon. *Semin. Thromb. Hemost.*, 1992, 18, 392-415.
- 74-ICHIKAWA N., ISHIDA F., SHIMODAIRA S., et al. Regulation of serum thrombopoietin levels by platelets and megakaryocytes in patients with aplastic anaemia and idiopathic thrombocytopenic purpura. *Thromb. Haemost.*, 1996, 76 (2), 156-160.
- 75-INOUE K., OKABE S. et al. The role of IL-6 in inhibition of lung metastasis in subcutaneous tumor-bearing mice. *Oncol. Rep.*, 2000, 7(1), 69-73.
- 76-JAIN N. C., The platelets. *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea and Febiger, Philadelphia, 1993, chap. 6, 105-132.
- 77-JIANG M.C., LIAN C.F., LEE P.H. Aspirin inhibits matrix metalloproteinase-2 activity, increases E-cadherin production and inhibits in vitro invasion of tumor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001, 282 (3), 671-677.
- 78-JOSHI B.C., JAIN N.C., Detection of antiplatelet antibody in serum and on megakaryocytes of dogs with autoimmune thrombocytopenia. *Am. J. Vet. Res.*, 1976, 37, 681-685.

- 79-KANELEO M. et al. Simple prognostic model for patients with multiple myeloma : a single center study in Japan. *Ann. Haematol.*, 2002, 81 (1), 33-36.
- 80-KEROACK S., CADORE J.L., JACQUEMIN N. Le sang. Diagnostic et traitement d'une CIVD. Conduite pratique d'une transfusion chez le chien. *Point Vét.*, 1999, 30 (202), 531-544.
- 81-KIMURA A.K., MEHTA P., XIANG J. et al. The lack of correlation between experimental metastatic potential and platelet aggregating activity of B16 melanoma clones viewed in relation to tumor cell heterogeneity. *Clin. Exp. Metastasis*, 1987, 5, 125-133.
- 82-KNOTTENBELT C., MACKIN A. Blood transfusion in the dog and cat. Part 2. Indications and safe administration. *In-Pract.*, 1998, 20, 191-199.
- 83-KORT W.J., HULSMAN L.O. et al. Reduction effect of aspirin treatment on primary tumor growth and metastasis of implanted fibrosarcoma in rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1986, 76 (4), 711-720.
- 84-KRISTENSEN A. T., WEISS D. J., KLAUSNER J. S., LABER J., CHRISTIE D. J., Detection of antiplatelet antibody with a platelet immunofluorescence assay. *J. Vet. Int. Med.*, 1994, 8 (1), 36-39.
- 85-KRISTENSEN A. T., WEISS D. J., KLAUSNER J. S., Platelet dysfunction associated with immune-mediated thrombocytopenia in dogs. *J. Vet. Int. Med.*, 1994, 8 (1), 323-327.
- 86-KUTER D.J., ROSENBERG R.D. The reciprocal relationship of thrombopoietin (c-mlp ligand) to changes in the mean platelet mass during busulfan-induced thrombocytopenia in the rabbit. *Blood*, 1995, 85, 2720.
- 87-LANDOLFI R., De CRISTOFARO R., CASTAGNOLA M., et al. Increased platelet-fibrinogen affinity in patients with myeloproliferative disorders. *Blood*, 1988, 71 (4), 978-982.

- 88- LEVIN J. Chemotherapy and thrombopoiesis, Brodsky I et al. (ed). *Cancer chemotherapy III : Forty-sixth Hahnemann Symposium*. New York, Grune and Stratton, 1978, 313-325.
- 89- LEWALLE J.M., CASTRONOVO V., GOFFINET G. et al. Malignant cell attachment to endothelium of ex vivo perfused human umbilical vein : modulation by platelets, plasma and fibronectin. *Thromb. Res.*, 1991, 62, 287.
- 90- LISIEWICZ J. Disseminated intravascular coagulation in acute leukemia. *Semin. Thromb. Hemost.*, 1988, 14, 339.
- 91- LISIEWICZ J. Mechanisms of hemorrhage in leukemias. *Semin. Thromb. Hemost.*, 1978, 4, 241.
- 92- MacEWEN E.G., HURVITZ A.I. Diagnosis and management of monoclonal gammopathies. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1977, 7, 119-132.
- 93- MADEWELL B.R., FELDMAN B.F., Characterization of anemias associated with neoplasia in small animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1980, 176, 419-425.
- 94- MADEWELL B.R., FELDMAN B.F., O'NEILL S. Coagulation abnormalities in dogs with neoplastic disease. *Thrombo. haemostas.*, 1980, 44, 35-38.
- 95- MAGGIO L., HOFFMAN R., COTTER S.M., et al. Feline pre-leukemia : an animal model of human disease. *Yale J. Biol. Med.*, 1978, 51, 469-476.
- 96- MANNUCCI P.M., VAGLINI M., MANIEZZO M., MAGNI E., MARI D., CASCINELLI N. Hemostatic alterations are unrelated to the stage of tumor in untreated malignant melanoma and breast carcinoma. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 1985, 21, 681-685.
- 97- MANOLA J., ATKINS M. et al. Prognostic factors in metastatic melanoma : a pooled analysis in Eastern cooperative group trials. *J. Clin. Oncol.*, 2000, 18 (22), 3782-3793.

- 98- MARCUM J. M., MCGILL M., JAMIESON G. A., Platelet-tumor cell-vessel wall interaction in vitro. *Blood*, 54 (suppl.) 251a : 1979.
- 99- MASSIGNON D. Cours d'hémodiologie DCEM 1. Faculté de médecine de Lyon Nord, 1998.
- 100- MEHTA P. et al. Arterial prostacyclin generation is decreased in patients with malignant bone tumors. *Cancer*, 1983, 52, 1297-1300.
- 101- MEHTA P., LAWSON D., WARD M.B., KIMURA A., GEE A. Effect of human tumor cells on platelet aggregation : potential relevance to pattern of metastasis. *Cancer Res.*, 1987, 47, 3115-3117.
- 102- MENEZER J., SCHEIJTER F. et al. Ovarian carcinoma associated thrombocytosis : correlation with prognostic factors and mild survival. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 1998, 19 (1), 82-84.
- 103- MENTER D.G., SLOANE B.F., STEINERT B.W., et al. Platelet enhancement of tumor cell adhesion to subendotheliale matrix : role of platelet cytoskeleton and platelet membrane. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1987, 79, 1077.
- 104- MOHRI H., NOGUCHI T., KODAMA F., ITOH A., OHKUBO T. Acquired von Willebrand disease due to inhibitor of human myeloma protein specific for Von Willebrand factor. *Am. J. Clin. Pathol.* 1987, 87, 663-668.
- 105- MURTAUGH R.J., JACOBS R.M. Suspected immune-mediated megakaryocytic hypoplasia or aplasia in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1985, 186, 1313-1315.
- 106- NEER T.M., HARVEY J.W. et al. Ehrlichiosis. In *Infectious disease of dog and cat.* GREENE C.E., 2nd edition, Philadelphia. W.B. Saunders Compagny, 1998, 139-154.
- 107- NELSON R.W., COUTO C.G. Disorders of hemostasis. In *Small Animal Medecine*, Mosby, St Louis, 1988, 992-1206.

- 108-ODELL T.T., MURPHY J.R. Effects of degree of thrombocytopenia on thrombocytopenic response. *Blood*, 1974, 44, 147-156.
- 109-O'DONNELL M. R., SLICHTER S. J., WEIDEN P. L., STORB R., Platelet and fibrinogen kinetics in canine tumors. *Cancer Res.*, 1981, 41, 1379-1383.
- 110-O'KEEFE D. A., COUTO C. G., Coagulation abnormalities associated with neoplasia. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 1988, 18 (1), 157-167.
- 111-PATRONO C., Aspirin as an antiplatelet drug. *N. Engl. J Med.*, 1994, 330 (18), 1287-1294.
- 112-PEDERSEN M., MILMAN N. Prognostic significance of thrombocytose in patients with primary lung cancer. *Eur. Respir. J.*, 1996, 9 (9), 1826-1830.
- 113-PENG J., FRIESE P., WOLF R.F., HARRISON P., DOWNS T. et al. Relative reactivity of platelets from thrombopoietin- and interleukin-6- treated dogs. *Blood*, 1996, 87 (10), 4158-4163.
- 114-PENG J.P., FRIESE P., GEORGE J.N., DALE G.L. et al. Alterations of platelet function in dogs mediated by interleukin-6. *Blood*, 1994, 83, 398.
- 115-PENG J.P., FRIESE P., HEILMANN E., GEORGE J.N., BURSTEIN S.A. DALE G.L. Aged platelets have an impaired response to thrombin. *Blood*, 1994, 83, 161.
- 116-PERKINS H.A., MacKENZIE M.R., FUDENBERG H.H. Hemostatic defects in dysproteinemias. *Blood*, 1970, 35, 695-707.
- 117-PEUSCHER F.W., CLETON F.J., ARMSTRONG L. et al. Significance of plasma fibrinopeptide A (fpA) in patients with malignancy. *J. Lab. Clin. Med.*, 1980, 96, 5-14.
- 118-PINELLA T.J., PETERS W. et al. Platelets acquire a secretion defect after high-dose chemotherapy. *Cancer*, 1990, 69, 1711-1716.

- 119-PINEO G.F., BRAIN M.C., GALLUS A.S. Tumors, mucus production and hypercoagulability. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1974, 230, 262.
- 120-PINEO G.F., REGORCZI F., HATTON M.W. The activation of coagulation by extracts of mucin : a possible pathway of intravascular coagulation accompanying adenocarcinomas. *J. Lab. Clin. Med.*, 1973, 82, 255.
- 121-REMUZZI G., BENIGNI A., DODESINI P., et al. Reduced platelet thromboxane formation in uremia : evidence for a functional cytoxygenase deficit. *J. Clin. Invest.*, 1983, 71, 762-768.
- 122-RESTUCCI B., DE VICO G., MAIOLINO P. Evaluation of angiogenesis in canine mammary tumors by quantitative platelet endothelial cell adhesion molecule immunohistochemistry. *Vet. Pathol.*, 2000, 37, 297-301.
- 123-RICKLES F.R., EDWARDS R.L., BARB C., CRONLUND M. Abnormalities of blood coagulation in cancer. *Cancer*, 1983, 51, 301-307.
- 124-RISHNIW M., LEWIS D. C., Localized Consumptive coagulopathy associated with cutaneous hemangiosarcoma in a dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 1994, 30, 261-264.
- 125-ROCHA E., PARAMO J.A., FERNANDEZ F.J. et al. Clotting activation and impairment of fibrinolysis in malignancy. *Thromb. Res.*, 1989, 54, 699-707.
- 126-ROGERS K.S. Coagulation disorders associated with neoplasia in the dog. *Vet. Med.* 1992, 55-61.
- 127-ROUSSI J.H., HOUBOUYAN L.L., ALTERESCU R., FRANC B., GOGUEL A.F. Acquired Von Willebrand's syndrome associated with hairy cell leukemia. *Br. J. Haematol.*, 1980, 46, 503-506.
- 128-SALGADO R., VERMEULEN P.B., BENOY I. et al. Platelet number and IL-6 correlate with VEGF but not with bFGF serum levels of advanced cancer patients. *Br. J. Cancer*, 1999, 80 (5-6), 892-897.

- 129- SCHAFER A.I. Bleeding and thrombosis in the myeloproliferative disorders. *Blood*, 1984, 64 (1), 1-12.
- 130- SCHALM O.W. Exogenous estrogen toxicity in the dog. *Canine pract.*, 1978, 5, 57-61.
- 131- SCHNEIDER A. Blood components : collection, processing and storage. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1995, 11, 261-263.
- 132- SCHNEIDER M.R., TANG D.G., SCHIRNER M., HONN K.V. Prostacyclin and its analogues : antimetastatic effects and mechanisms of action. *Cancer metastasis Rev.*, 1994, 13 (3-4), 349-364.
- 133- SCWARTZ K.A., SLICHTER S.J., HARKER L.A. Immune-mediated platelet destruction and thrombocytopenia in patients with solid tumors. *Br. J. Haematol.*, 1982, 51, 17-24.
- 134- SCWARZ R.E., KENY H. Preoperative platelet count predicts survival after resection periampullary adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology*, 2001, 48 (41), 1493-1498.
- 135- SHEPARD V.J., DODDS-LAFFIN W.J., LAFFIN R.J., Gamma A myeloma in a dog with defective hemostasis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1972, 160, 102-104.
- 136- SHERDING R.G., WILSON III G.P., KOCIBA G.J. Bone marrow hypoplasia in eight dogs with Sertoli cell tumors. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1981, 178, 497-501.
- 137- SLAPPENDEL R.J. Disseminated intravascular coagulation. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1988, 18 (1), 169-184.
- 138- SLICHTER S. J., WEIDEN P. L., O'DONNELL M. R., et al. Interruption of tumor-associated platelet consumption with platelet enzyme inhibitors. *Blood*, 1982, 59, 1252-1258.
- 139- SPIER S.J., MADEWELL B.R., ZINKL J.G., et al. Acute myelomonocytic leukemia in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, 188, 861-863.

- 140- STOCKHAUS C., KOHN B., RUDOLPH R., BRUNNBERG L., GIGER U. Correlation of haemostatic abnormalities with tumor stage and characteristics in dogs with mammary carcinoma. *J. Small Anim. Pract.*, 1999, 40, 326-331.
- 141- SULLIVAN G.W., CARPER H.T., MANDELL G.L. The effect of three human recombinant hematopoietic growth factors (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, granulocyte colony-stimulating factor, interleukin-3) on phagocytic oxidative activity. *Blood*, 1993, 81, 1863.
- 142- THATCHER L.G., CLATANOFF D.V., STEIHM E.R. Splenic hemangioma with thrombocytopenia and afibrinogenemia. *J. Pediatr.*, 1981, 73, 345-354.
- 143- THEOFILOPOPOULOS A. N., ANDREWS B. S. URIST M. M., MORTON D. L., DIXON F. J., *J. Immun.*, 1977, 119 (2), 657-663.
- 144- THOMAS J.S., ROGERS K.S. Platelet aggregation and adenosine triphosphate secretion in dogs with untreated multicentric lymphoma. *J. Vet. Inter. Med.*, 1999, 13, 319-322.
- 145- THOMPSON C.B., JAKUBOWSKI J.A., QUINN P.G., DEYKIN D., VALE C.R. Platelet size and age determine platelet function independently. *Blood*, 1984, 63, 1372.
- 146- THRALL M.A. Lymphoproliferative disorders : lymphocytic leukemia and plasma cell myeloma. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1981, 11, 321-347.
- 147- TOYOSHIMA M., NAKAJIMA M., YAMORI T. et al. Purification and characterization of the platelet-aggregating sialoglycoprotein gp 44 expressed by highly metastatic variant cells of mouse colon adenocarcinoma 26. *Cancer Res.*, 1995, 55, 767-773.
- 148- TSURUO T., WATANABE M., OH-HARA T. Stimulation of the growth of metastatic clones of mouse colon adenocarcinoma 26 in vitro by platelet-derived growth factor. *Jpn. J. Cancer Res.*, 1989, 80, 136.

- 149- VASQUEZ J.J., LEWIS J.H. Immunocytochemical studies on platelets. The demonstration of a common antigen in human platelets and megacaryocytes. *Blood*, 1960, 16, 968-976.
- 150- VERMEULEN P., SALGADO R., BENCY I. et al. Platelet number and interleukin-6 correlate with serum VEGF in advanced cancer patients. *Proceedings of the Am. Assoc. Cancer Res.*, 1999, 40, art. 1511.
- 151- WARE J.A., CLARK B.A., SMITH M., SALZMAN E.V. Abnormalities of cytoplasmic calcium in platelets from patients with uremia. *Blood*, 1989, 73, 172-176.
- 152- WARREL R.P., KEMPIN S.J. Treatment of severe coagulopathy in the Kasabach-Merritt syndrome with aminocaproic acid and cryoprecipitate. *N. Engl. J. Med.*, 1985, 313, 309-312.
- 153- WARREL R.P., KEMPIN S.J., BENUA R.S., et al. Intratumoral consumption of indium-111 labeled platelets in a patient with hemangiomas and intravascular coagulation (Kasabach-Merritt syndrome). *Cancer*, 1983, 53, 2256-2260.
- 154- WEIDNER N., CARROLL N., BLUMENFELD W. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am. J. Pathol.*, 1993, 143, 401-409.
- 155- WEIDNER N., SEMPLE J.P., WELCH W.R. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N. Engl. J. Med.*, 1991, 324, 1-8.
- 156- WELLES E. G., Antithrombotic and fibrinolytic factors. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1996, 26 (5), 1111-1127.
- 157- WINTROBE M.M., LEE G.R., BOGGS D.R., et al. *Clinical Hematology*. Ed. 8, Philadelphia, Lea and Febiger, 1981, p 371.
- 158- WITHROW S.B., MAC EWEN E.G. Cancer biology and metastasis. In *Small animal clinical oncology*, 2001, chap. 3, 18-34.

- 159-YAHARA Y., OKAWA S., ONOZAWA Y. et al., Activation of platelets in cancer, especially with reference to genesis of disseminated intravascular coagulation. *Thromb. Res.*, 1983, 29, 27-35.
- 160-ZEIGLER F.C., De SAUVAGE F., WIDMER H.R., KELLER G.A. et al. In vitro megakaryocytopoietic and thrombopoietic activity of c-mlp ligand (TPO) on purified murine hematopoietic stem cells. *Blood*, 1994, 84, 4045.
- 161-ZUCKER S., Anemia associated with foreign cells in the marrow (myelophthisis). *Hematology and oncology*, Lichtman MA (ed). New York, Grune and Stratton. 1980, p 42.

**LES PLAQUETTES SANGUINES CHEZ LE CHIEN : PHYSIOLOGIE ET
PERTURBATIONS AU COURS DES AFFECTIONS TUMORALES.
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.**

NOM et Prénom : MAUPAS Hélène

RESUME :

Cette thèse est une revue bibliographique des désordres plaquettaires survenant lors de processus tumoraux chez le chien.

Dans un premier temps, la physiologie plaquettaire est rappelée : les plaquettes interviennent non seulement dans l'hémostase primaire mais également dans l'hémostase secondaire, la fibrinolyse, la rétraction du caillot, la réparation tissulaire, l'inflammation et la défense contre les microorganismes.

Puis la pathogénie des désordres plaquettaires lors de processus tumoraux (thrombocytopénie, thrombocytose et thrombocytopathie) est détaillée et leur épidémiologie présentée.

Enfin, l'implication des plaquettes dans le processus métastatique et ses conséquences cliniques, thérapeutiques et pronostiques, sont soulignées.

Mots-Clés : Chien - Plaquette - Tumeur - Thrombocytopénie - Thrombocytose - Thrombocytopathie - Métastase.

JURY :

Président : Pr

Directeur : Pr FONTAINE

Assesseur : Pr CHETBOUL

Adresse de l'auteur :

Hélène MAUPAS

8, avenue de la Maye

78 000 Versailles

**THE PLATELETS : PHYSIOLOGY AND DISORDERS IN CANINE TUMORS.
BIBLIOGRAPHIC STUDY.**

SURNAME : MAUPAS

Given name : Hélène

SUMMARY :

This thesis is a bibliography concerning the platelet disorders associated with neoplasia in dogs.

First, the platelet physiology is described : platelets are involved not only in primary haemostasis but also in secondary haemostasis, fibrinolysis, clot retraction, tissue repair, inflammation and body defense.

Then, the pathogeny of platelet disorders in cancer (thrombopenia, thrombocytosis and thrombocytopathy) is detailed and their epidemiology is presented.

Finally, the role of the platelets in the metastatic process and their clinical, therapeutic and prognostic consequences are underlined.

KEY WORD : Dog - Platelet - Tumor- Thrombocytopenia - Thrombocytosis - Thrombocytopathy- Metastasis.

JURY :

President : Pr

Director : Pr FONTAINE

Assessor : Pr CHETBOUL

Author's address :

Hélène MAUPAS

8, avenue de la Maye

78 000 Versailles