

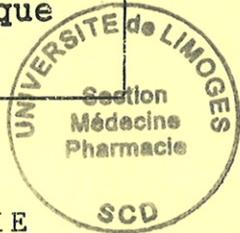
UNIVERSITE DE LIMOGES  
FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE 1996

THESE N° 38 / 1

L'HEPARINOTHERAPIE ET UNE DE SES COMPLICATIONS :  
LES THROMBOPENIES  
Comparaison de deux méthodes de diagnostic biologique  
à propos de quelques cas



THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le: 20 NOVEMBRE 1996

PAR

- . Christèle ROURE
- . Née le 29 Mai 1971 à BRIVE (19)

EXAMINATEURS DE LA THESE

M. le Professeur G.Habrioux.....-Président.

PAR ORDRE ALPHABETIQUE

Mlle M.Javerliat.....-Juge

Mme A.Julia.....-Directeur

M Y.Nouaille.....-Juge

# **UNIVERSITE DE LIMOGES**

## **FACULTE DE PHARMACIE**

---

**DOYEN DE LA FACULTE:** Monsieur le Professeur GHESTEM Axel

**ASSESEURS:** Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard  
Monsieur DREYFUSS Gilles - Maître de Conférences

**PROFESSEURS:**

<b>BENEYTOUT Jean-Louis</b>	<b>BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE</b>
<b>BERNARD Michel</b>	<b>PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE</b>
<b>BOSGIRAUD Claudine</b>	<b>BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE</b>
<b>BROSSARD Claude</b>	<b>PHARMACOTECHNIE</b>
<b>BUXERAUD Jacques</b>	<b>CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTIQUE</b>
<b>CARDOT Philippe</b>	<b>CHIMIE ANALYTIQUE</b>
<b>CHULIA Albert</b>	<b>PHARMACOGNOSIE</b>
<b>CHULIA Dominique</b>	<b>PHARMACOTECHNIE</b>
<b>DELAGE Christiane</b>	<b>CHIMIE GENERALE ET MINERALE</b>
<b>GHESTEM Axel</b>	<b>BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE</b>
<b>HABRIOUX Gérard</b>	<b>BIOCHIMIE FONDAMENTALE</b>
<b>LACHATRE Gérard</b>	<b>TOXICOLOGIE</b>
<b>MOESCH Christian</b>	<b>HYGIENE</b>
<b>ODART Nicole</b>	<b>PHARMACODYNAMIE</b>
<b>RABY Claude</b>	<b>PHARMACIE CHIMIQUE ET CHIMIE ORGANIQUE</b>

**SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS**

**POMMARET Maryse**

A mes parents, mon frère, pour la présence, l'aide et le soutien qu'ils m'ont offerts tout au long de ma scolarité et de mes études.

Qu'ils trouvent ici le témoignage de mes sentiments les plus profonds.

A toute ma famille, pour l'affection qu'elle me témoigne.

A mon ami, mes amis, pour leur accompagnement.

A notre président de thèse

Monsieur le Professeur G.Habrioux

Professeur des Universités de Biochimie Fondamentale

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de  
présider le jury appelé à apprécier notre travail.

La valeur de votre enseignement, vos qualités humaines, font  
l'objet de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A nos juges

Mademoiselle M.Javerliat

Pharmacien Hospitalier

Chef de la Pharmacie centrale du CHU de Limoges

Monsieur le Docteur Y.Nouaille

Service de Pharmacovigilance du CHU de Limoges

Nous vous sommes reconnaissants de nous faire l'honneur  
de juger notre thèse.

Veillez trouver ici l'expression de notre sincère  
gratitude pour votre présence dans ce jury et pour votre  
enseignement.

A notre directeur de thèse

Madame A. Julia

Maitre de conférence universitaire d'hématologie

Praticien hospitalier

Vous m'avez fait l'honneur de me confier ce travail.

Votre aide et votre accueil chaleureux en ont permis la réalisation.

Par votre enseignement, vous avez su nous faire partager votre intérêt pour l'hématologie.

Que ce travail soit le témoignage de notre profonde reconnaissance.

## Remerciements

A Monsieur le Docteur Praloran  
Chef du Laboratoire d'Hématologie du CHU de Limoges

Pour m'avoir permis de travailler dans son  
laboratoire.

Aux Techniciennes du laboratoire d'hémostase  
Pour leur collaboration.

Au service de documentation de chez Fragmine<sup>R</sup>  
Pour la bibliographie fournie

Au laboratoire STAGO  
Pour les kits échantillons "HPIA"

## PRESENTATION

\*\*\*\*\*

### PARTIE I : LA COAGULATION ET LES HEPARINES.

Chapitre I	L'hémostase
Chapitre II	Les héparines
Chapitre III	Mécanisme de l'action anticoagulante
Chapitre IV	Mode d'emploi. Surveillance
Chapitre V	Effets secondaires

### PARTIE II : LES THROMBOPENIES INDUITES PAR L'HEPARINE.

Chapitre I	Analyse bibliographique
Chapitre II	Travail de recherche personnel Comparaison de deux méthodes de diagnostic biologique

\*\*\*\*\*

SOMMAIRE

Bibliographie	p.10
Introduction	p.15
PARTIE I LA COAGULATION ET LES HEPARINES	p.17
Chapitre I L'hémostase	p.18
I. L'hémostase primaire	p.21
II. La coagulation plasmatique	p.25
III. La fibrinolyse	p.35
Chapitre II Les héparines	p.40
I. Origine. Préparation	p.41
II. Structure	p.41
III. Principales héparines	p.46
IV. Propriétés de l'héparine	p.47
Chapitre III Mécanisme de l'action anticoagulante des héparines.	p.58
I. Interaction de l'héparine avec les facteurs de la coagulation.	p.59
II. Différence d'activité entre l'HNF et les HBPM	p.61
III. A quelle activité est liée l'action antithrombotique?	p.63
IV. Interaction héparine/plaquettes	p.68
Chapitre IV Emploi des héparines	p.69
I. Dosage. Conditionnement.	p.71
II. Indications	p.74
III. Schémas thérapeutiques	p.80
IV. Surveillance des traitements	p.88
V. Récapitulatif des avantages des HBPM	p.94
Chapitre V Effets secondaires des héparines	p.97
I. Hémorragies	p.98
II. Autres effets secondaires plus rares	p.101

PARTIE II	LES THROMBOPENIES INDUITES PAR L'HEPARINE	p.103
Chapitre I	Analyse bibliographique	p.104
I.	La TIH type I	p.106
II.	La TIH type II	p.107
Chapitre II	Travail de recherche personnel Comparaison de deux méthodes de diagnostic biologique	p.129
I.	Matériel et méthodes	p.130
II.	Le prélèvement	p.131
III.	Méthodes	p.131
IV.	Résultats	p.139
V.	Discussion	p.142
Conclusion		p.162

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 M.Aiach, B.Boneu, G.Potron  
Utilisation des héparines en pratique médicale courante.  
STV, Mai 1991; n° spécial:4-10.
- 2 J.Amiral & al  
Rôle des anticorps anti complexes facteur plaquettaire 4  
-héparine dans les thrombopénies induites par l'héparine.  
Société française d'hématologie  
Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose.  
Paris, 15-16 Octobre 1993.
- 3 J.Amiral, D.Meyer  
Rôle du facteur plaquettaire 4 (PF4) dans les thrombopénies  
induites par l'héparine.  
STV, 1995; 7:549-55
- 4 T.W.Barrowcliffe  
Low molecular-weight heparin(s)  
British Journal of Haematology, 1995; 90:1-7
- 5 P.Becker, T.Miller  
Héparin-Induced Thrombocytopenia  
Stroke, 1989; 20:1449-59
- 6 B.Boneu  
Faut-il mesurer l'activité anti facteur-Xa au cours des  
traitements par les héparines de bas poids moléculaire?  
STV, 1989; 1:53-5
- 7 B.Boneu  
Le risque hémorragique des héparines de bas poids moléculaire  
est-il moins important que celui de l'héparine non fractionnée  
STV, 1992; 4:129-31
- 8 B.H.Chong  
Heparin-induced thrombocytopenia.  
British Journal of Haematology, 1995; 89:431-9
- 9 A.Dacosta & al  
Lésions cutanées, hypereosinophilie et héparines: le risque  
est-il identique pour l'héparine non fractionnée et les  
héparines de bas poids moléculaire?  
STV, 1995; 7:375-8
- 10 C.Doutremepuich, M.C.Anne  
Les héparines.  
Moniteur internat, 1987; 1:7-11
- 11 Y.Gruel  
Les thrombopénies induites par l'héparine: Notions actuelles.  
STV, 1989; 1:233-6.
- 12 Y.Gruel  
Thrombopénies induites par l'héparine.  
La revue du praticien, 1995; 9:45-50

- 13 Y.Gruel  
Thrombopénies induites par l'héparine et traitement  
anticoagulant: Quelle stratégie?  
Société française d'hématologie  
Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose.  
Paris, 15-16 Octobre 1993.
- 14 J.Hirsh, S.Siragusa, B.Cosmi, J.S.Ginsberg  
Low Molecular Weight Heparins (LMWH) in the Treatment of  
Patients with Acute Venous Thromboembolism.  
Thrombosis and Haemostasis,1995; 74:360-3
- 15 A.Kher  
Les héparines de bas poids moléculaire: progrès et limites.  
La lettre du pharmacologue,1993; 7:225-31
- 16 A.Kher, F.Toulemonde  
Les héparines de bas poids moléculaire supplanteront-elles  
l'héparine standard?  
STV,1992; 4:537-9
- 17 T.Lecompte & al  
Thrombopénie grave sous tédelparine avec embolie pulmonaire et  
coagulopathie de consommation.  
La Presse Médicale,1991; 20:563
- 18 G.Lesèche, M.H.Denninger  
Thrombopénies induites par l'héparine: difficultés  
diagnostiques, physiopathologiques et thérapeutiques.  
STV,1991; 3:563-6
- 19 H.Levesque  
Evaluation économique du traitement curatif de la thrombose  
veineuse profonde constituée.  
A propos d'une étude française publiée dans "The Lancet"  
comparant l'héparine standard à la Fraxiparine.  
Thérapeutique et Pratique hospitalière,1993; 4:9-12
- 20 T.Lindhout, J.Pieters, P.Schoen, S.Beguin, H.C Hemker  
Mode d'action du CY216 sur la génération de thrombine dans le  
plasma et en systèmes purifiés.  
Fraxiparine.Données analytiques,structurales,pharmacologiques  
et cliniques.  
Ed.Schattauer,1987:4
- 21 J.C.Lormeau  
Les activités pharmacologiques non anticoagulantes de  
l'héparine.  
STV,1991; 3:117-23
- 22 D.M.Lynch, S.E.Howe  
Heparin associated thrombocytopenia: Antibody binding  
specificity to platelet antigens.  
Blood,1985; 66:1176-81
- 23 D.Massignon  
Surveillance biologique des traitements anticoagulants par  
antivitamines K et héparines.  
Lyon Pharmaceutique,1988; 4:225-30

- 24 P.Molho-Sabatier  
Les traitements hépariniques dans les thromboses artérielles.  
STV,1990; 2:343-7
- 25 G.Montalescot  
Réactions gravissimes après neutralisation de l'héparine par  
la protamine.  
STV,1989; 1:101-5
- 26 P.Nguyen  
Thrombopénie induite par l'héparine:enquête sur les tests  
utilisés et l'attitude des laboratoires d'hématologie.  
Société française d'hématologie  
Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose.  
Paris, 15-16 Octobre 1993.
- 27 J.Ninet & al  
Les héparines de bas poids moléculaire ont-elles une place  
dans le traitement curatif des thromboses veineuses profondes?  
STV,1992; 4:385-93
- 28 E.Rubinstein, C.Boucheix, T.Lecompte  
Activation plaquettaire CD 32-dépendante:notions fondamentales  
et applications aux thrombopénies induites par les héparines.  
Société française d'hématologie  
Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose.  
Paris, 15-16 Octobre 1993.
- 29 M.M.Samama  
Physiologie et exploration de l'hémostase  
Doin Editeurs,1990.
- 30 M.M.Samama, L.Bara  
L'évolution de la connaissance de la pharmacologie des  
héparines de bas poids moléculaire(HBPM).  
Société française d'hématologie  
Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose.  
Paris, 15-16 Octobre 1993.
- 31 M.M.Samama, L.Bara, O.Chappey  
Les héparines de bas poids moléculaire  
STV,1989; 1:107-16
- 32 M.M.Samama, A.Kher  
Le traitement des thromboses veineuses profondes constituées  
par les héparines de bas poids moléculaire(HBPM).  
STV,1989; 1:353-7
- 33 C.M.Samama, T.Lecompte  
Conduite à tenir devant une thrombopénie induite par  
l'héparine.  
Résumé des interventions du congrès SFAR,1993; 661-671
- 34 J.Sampol, D.Arnoux, B.Boutière  
Manuel d'hémostase  
Collection option/Bio 1  
Ed.Elsevier, 1995.

- 35 B.Sardin, D.Grouille, A.Julia, M.H.Demontoux, D.Colin  
P.Boulogne, P.L.Ferrat, P.Feiss  
Les thrombopénies induites par l'héparine.  
Cahiers d'anesthésiologie,1987; 35:225-31
- 36 C.Soubrié  
Les thrombopénies induites par l'héparine: Le regard de la  
pharmacovigilance.  
Société française d'hématologie  
Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose.  
Paris, 15-16 Octobre 1993.
- 37 G.Tobelem  
Héparinothérapie: un traitement de cinq jours est aussi  
efficace qu'un traitement de dix jours.  
STV,1990; 2:437-8
- 38 Vidal 1996
- 39 TE.Warkentin & al  
Héparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low  
-molecular-weight heparin or unfractionated heparin.  
THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDECINE,1995; 332:1330-5
- 40 H.Wolf, G.Wick  
Antibodies interacting with, and corresponding binding site  
for, heparin on human thrombocytes (letter)  
Lancet,1986; 2:222-3



## RESUME

L'héparine est un anticoagulant injectable destiné au traitement et à la prévention de la maladie thromboembolique. Elle occupe donc une place centrale dans le domaine cardio-vasculaire et chirurgical.

On distingue deux types d'héparine: l'héparine non fractionnée et les héparines de bas poids moléculaire obtenues par fractionnement des premières.

Les indications respectives de chacune ont évolué au fur et à mesure que s'est développée leur connaissance.

De leurs propriétés physico-chimiques résulte la plupart de leurs activités pharmacologiques. Mais seule l'action principale anticoagulante est utilisée en thérapeutique. Son mécanisme passe par l'intermédiaire de l'antithrombine-III, régulateur physiologique de la coagulation, dont elle potentialise l'action inhibitrice.

Les modalités d'emploi de l'héparine sont maintenant bien définies, elles incluent une surveillance biologique du traitement afin de prévenir certains effets secondaires:

- le contrôle de l'hémostase permet de gérer le risque hémorragique ainsi que l'efficacité thérapeutique, notamment pour l'héparine non fractionnée.

- le contrôle des numérations plaquettaires est lui systématique devant le risque de thrombopénie induite par tous les types d'héparine.

Cette complication incombe à un processus immunoallergique. Sa mise en évidence précoce permet d'éviter par arrêt immédiat de l'héparine les complications cliniques surtout thrombotiques et parfois hémorragiques. Cependant les alternatives thérapeutiques étant aujourd'hui peu satisfaisantes, l'arrêt de toute héparinothérapie paraît une décision difficile à prendre pour un patient qui nécessite d'être anticoagulé.

Pour le clinicien, la conduite à tenir serait éclairée par un diagnostic biologique rapide et sûr encore absent aujourd'hui.

Nous nous sommes intéressés à une nouvelle méthode basée sur une technique immunoenzymatique de type Elisa utilisant le facteur plaquettaire 4. Une étude comparative avec le test d'agrégation plaquettaire a été réalisée. Les principales caractéristiques que nous avons pu en dégager constituent des indications précieuses pouvant favoriser son éventuelle utilisation ultérieure en pratique courante.

**Mots-clés:**

Héparine. Thrombose. Plaquette . Thrombopénie.  
Facteur plaquettaire 4. Agrégation plaquettaire. Elisa.

## Introduction

L'héparine est un anticoagulant très utilisé dans le traitement curatif et préventif des maladies thromboemboliques. La découverte de l'héparine est due à Mac.Lean en 1916; Howell en 1918 en a précisé la nature chimique mais ce n'est qu'en 1936 qu'elle a été utilisée pour la première fois chez l'homme comme anticoagulant.

A cette époque, l'héparinothérapie n'était fondée que sur des bases empiriques puisqu'il faudra attendre les années 70 pour découvrir le mécanisme d'action précis de l'héparine.

En 1970, la préparation par l'institut Choay d'un sel calcique d'héparine permet son administration par voie sous-cutanée, alors que jusque-là on ne disposait que de sels sodiques administrables seulement par voie intra-veineuse.

Au début des années 80, la fractionnement de l'héparine ouvre la génération des Héparines de Bas Poids Moléculaires (HBPM), plus intéressantes à plusieurs égards. La molécule mère est alors appelée Héparine Non Fractionnée (HNF). La première HBPM est mise sur le marché en 1986. On ne parle plus alors de l'héparine mais des héparines. Depuis, la connaissance des héparines n'a cessé de se développer. Les places de chacune: HNF et HBPM, dans la prévention et le traitement des maladies trombotiques a évolué. On passe aussi d'une héparinothérapie uniquement curative à une utilisation à visée préventive.

La première partie de ce travail, sera consacrée à une étude bibliographique de l'hémostase, et des héparines où nous étudierons successivement leur structure et leurs propriétés. Nous essayerons de faire le point sur leurs indications et leur mode d'emploi, tout en différenciant à chaque fois HBPM et HNF.

Puis en seconde partie, nous avons choisi de développer une des complications que peut entraîner de tels traitements: les thrombopénies induites par l'héparine (TIH). Nous étudierons d'abord cette pathologie au travers des données bibliographiques actuelles. Puis un travail de recherche personnel, réalisé à partir de cas cliniques, aura pour but de comparer deux méthodes de diagnostic biologique: l'une connue et utilisée par les laboratoires mais longue et peu sensible, l'autre mise au point récemment, normalement plus sensible mais dont les preuves de fiabilité manquent aujourd'hui pour pouvoir être utilisée couramment. Une série d'expérience contribuera à faire la lumière sur ce test.

**PARTIE I****LA COAGULATION ET LES HEPARINES**

Chapitre I	L'hémostase
Chapitre II	Les héparines
Chapitre III	Mécanisme de l'action anticoagulante
Chapitre IV	Mode d'emploi. Surveillance
Chapitre V	Effets secondaires

## CHAPITRE I

## L'HEMOSTASE

\*\*\*\*\*

Définitions-généralités.

I.L'hémostase primaire.

I.1.Temps vasculaire.

I.2.Temps plaquettaire.

I.2.1 .Adhésion.

I.2.2 .Activation. Sécrétion.

I.2.3 .Agrégation.

II.La coagulation plasmatique.

II.1.Déroulement.

II.1.1 .Formation de la prothrombinase.

II.1.2 .Thrombinoformation.

II.1.3 .Fibrinoformation.

II.2.Origine des facteurs de la coagulation.

II.3.Inhibition de la coagulation plasmatique.

II.3.1 .Les serpinés:"Sérine protéase inhibitors".

II.3.2 .Le système protéine C - protéine S.

II.3.3 .L'inhibiteur de la voie extrinsèque.

III.La fibrinolyse.

III.1.Activation du plasminogène en plasmine.

III.2.Inhibition de la fibrinolyse.

III.3.Fibrinolyse.

\*\*\*\*\*

## Définitions-généralités.

A l'état physiologique normal, le sang circule dans les vaisseaux qui n'ont pas d'activité thrombogène. Dès que la structure du vaisseau est modifiée, dès qu'il y a rupture de la continuité de la paroi vasculaire, tout le système de l'hémostase se met en place très vite de façon à arrêter les saignements.

L'hémostase regroupe donc les différents mécanismes qui assurent la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies.

En cas de déséquilibre de ce système, il peut se produire une hémorragie ou inversement une thrombose.

Différents éléments vont intervenir dans ce système: la paroi vasculaire, la plaquette, le système de la coagulation et celui de la fibrinolyse.

L'hémostase comprend plusieurs phases que l'on traitera séparément bien qu'il y ait intrication entre elles.

On retrouve classiquement trois phases:

- L'hémostase primaire

comprenant un temps vasculaire

et un temps plaquettaire.

- La coagulation plasmatique

comprenant deux voies: voie endogène= intrinsèque

voie exogène= extrinsèque.

- La fibrinolyse

chargée de débarrasser l'organisme des dépôts

fibrineux.

Mécanisme général.

La blessure d'un vaisseau entraîne une vasoconstriction réflexe immédiate qui diminue l'étendue de la plaie. Puis la mise à nu des structures sous-endothéliales vasculaires déclenche une stimulation des plaquettes. Elles vont adhérer à la paroi vasculaire et changer de forme, ce qui constitue l'activation plaquettaire.

Les plaquettes activées secrètent différents composés (dont ADP et ATP): c'est la sécrétion plaquettaire ou "release". Elles deviennent alors capables d'adhérer les unes aux autres: c'est l'agrégation plaquettaire. Un agrégat plaquettaire initialement réversible est ainsi formé.

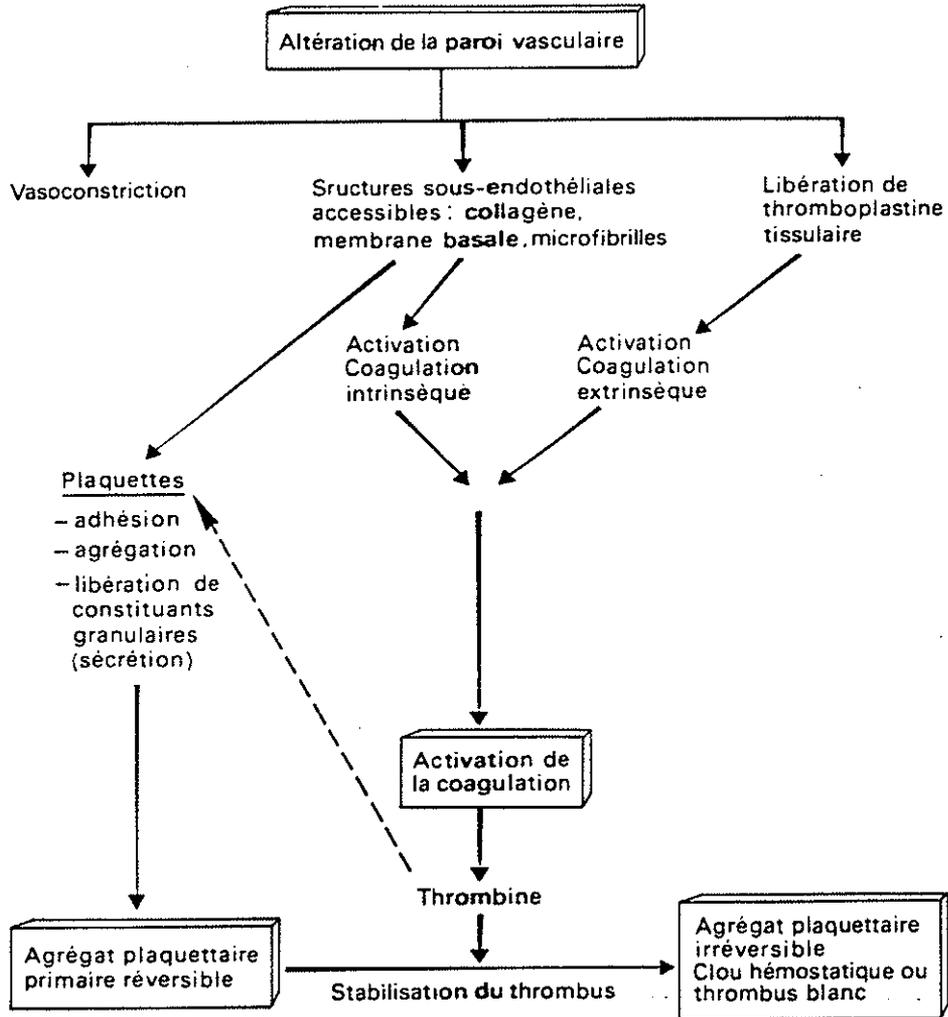
Parallèlement, la coagulation est initiée:

- par contact des facteurs plasmatiques de la coagulation avec les structures sous-endothéliales, ce qui active certains facteurs de la coagulation: voie endogène.
- par libération de thromboplastine tissulaire: voie exogène.
- par l'activation des plaquettes qui expriment à leur surface des activités procoagulantes.

La thrombine née de la coagulation transforme alors l'agrégat plaquettaire réversible en un agrégat plaquettaire irréversible: thrombus blanc. Ce clou hémostatique permet l'arrêt provisoire du saignement.

# I. L'HEMOSTASE PRIMAIRE.

Schéma général de l'hémostase primaire. (29)



### I.1. Temps vasculaire.

Le temps vasculaire correspond à la vasoconstriction réflexe immédiate mais transitoire des petits vaisseaux blessés (artérioles, veinules) liée à la stimulation immédiate de terminaisons sympathiques, au niveau de la paroi vasculaire. Cette vasoconstriction est exercée par les cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire. Elle va freiner la perte sanguine et favoriser la margination des plaquettes au niveau de la brèche vasculaire. Il est difficile de dissocier le temps vasculaire du temps plaquettaire qui lui succède, car à ce stade, les plaquettes jouent un rôle important:

- Elles obstruent les petites brèches vasculaires
- Elles véhiculent des amines vasoactives: sérotonine, adrénaline, noradrénaline, et synthétisent des prostaglandines ou dérivés comme le thromboxane A<sub>2</sub> qui a une action vasoconstrictive puissante.

### I.2. Temps plaquettaire.

Les plaquettes n'adhèrent pas à l'endothélium intact mais se fixent au sous-endothélium exposé lors d'une lésion vasculaire. La non thrombogénicité de l'endothélium résulte des propriétés des cellules endothéliales le constituant: leurs membranes chargées négativement jouent un rôle répulsif vis à vis des plaquettes chargées aussi négativement.

### I.2.1. Adhésion.

L'altération du vaisseau met à nu les structures sous-endothéliales: membranes basales, fibres de collagène, fibres élastiques, microfibrilles.

Les plaquettes vont adhérer à ces structures sous-endothéliales par l'intermédiaire d'une protéine secrétée par les cellules endothéliales: le facteur Willebrand. En effet, le facteur Willebrand présent dans le sous-endothélium se lie à son récepteur plaquettaire: la glycoprotéine Ib. La plaquette peut également se lier directement au collagène par la glycoprotéine Ia.

### I.2.2. activation. sécrétion.

\* changement de forme.

Quand les plaquettes entrent en contact avec le sous-endothélium, elles émettent des pseudopodes (ou dendrites) qui s'étalent le long des fibres de collagène et y adhèrent. Ceci provoque une modification de la forme des plaquettes associée à des remaniements de l'ultrastructure; (Ce changement de forme est appelé "Shape-change"). La membrane plaquettaire ainsi modifiée permet la fixation des facteurs de la coagulation.

Les inducteurs du changement de forme sont: Les fibres de collagène, les microfibrilles, la membrane basale, les traces d'ADP ou de thrombine déjà formées.

Ce changement de forme va faire passer les plaquettes à l'état activé. Elles vont alors sécréter des constituants stockés dans des formations granulaires spécialisées: "Release plaquettaire".

\* La sécrétion des granules fait appel à une modification ultrastructurale des plaquettes, dont le processus biochimique fait intervenir la voie des prostaglandines: les étapes successives sont:

- interaction d'un inducteur spécifique (collagène) avec un récepteur spécifique membranaire.

- libération du calcium ( $Ca^{++}$ ) intramembranaire au niveau de la membrane du système tubulaire.

- activation de la phospholipase  $A_2$ .

- génération du thromboxane  $A_2$  à partir de l'acide arachidonique.

- mobilisation intracytoplasmique du calcium par le thromboxane  $A_2$

- sous l'action du calcium, fusion des membranes des granules denses et du système tubulaire.

Les constituants sécrétés sont les contenus des granules denses et des granules alpha.

.contenu des granules denses:

- ADP,ATP: servent à la continuité de la fonction plaquettaire.

- sérotonine: entretient la vasoconstriction

- ions  $Ca^{++}$ .

.contenu des granules alpha:

- fibrinogène plaquettaire

- facteur V

- phospholipide: facteur 4 plaquettaire (PF4) qui a une activité anti-héparine.

En même temps que se produit la réaction sécrétoire, se produit un remaniement membranaire appelé le "flip-flop". Ce phénomène aboutit à l'extériorisation sur la surface plaquettaire de phospholipides procoagulants chargés négativement (phosphatidyl sérine).

Ces facteurs interviennent dans la phase de coagulation plasmatique.

### **I.2.3 .Agrégation.**

L'agrégation correspond à l'adhésion des plaquettes entre elles. Elle est induite par divers agents proagrégants, principalement l'ADP et la thrombine (ainsi que le thromboxane, le collagène, l'adrénaline). Les agents provoquant la sécrétion plaquettaire sont capables d'agréger les plaquettes.

Le mécanisme de l'agrégation fait intervenir la voie des prostaglandines. On aboutit à la libération du thromboxane A<sub>2</sub> très agrégant.

La thrombine agit en transformant l'agrégation réversible en agrégation irréversible. Le fibrinogène intervient alors en se fixant sur les glycoprotéines IIb et IIIa de la membrane plaquettaire, ce qui va consolider l'agrégat.

On obtient alors le thrombus blanc.

## **II. LA COAGULATION PLASMATIQUE.**

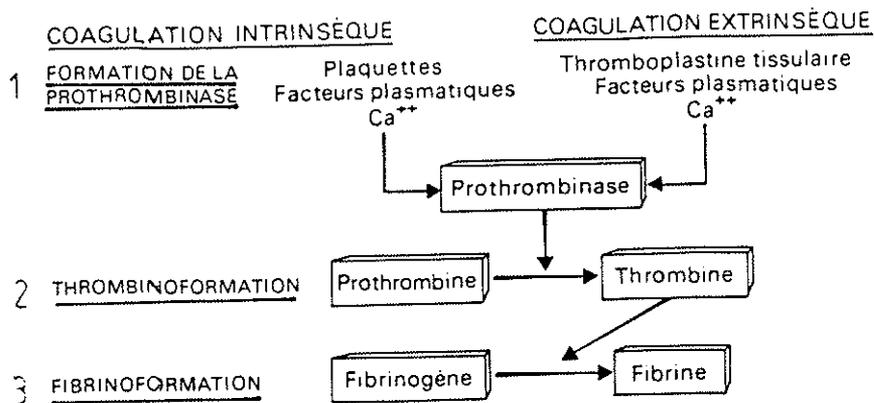
Le clou hémostatique (thrombus blanc) apparu à l'issue du temps plaquettaire permet une hémostase imparfaite et temporaire.

La coagulation intervient pour consolider ce thrombus, et va aboutir à la formation d'un caillot appelé thrombus rouge.

Ce caillot est fait de fibrine provenant de l'activation du fibrinogène par la thrombine qui provient elle-même de l'activation de la prothrombine par la prothrombinase.

On distingue donc trois phases successives dans la coagulation:

(32)



## II.1. Déroulement.

(37)

### II.1.1. formation de la prothrombinase.

Deux voies aboutissent à la formation de prothrombinase. On les traite séparément mais elles sont interdépendantes et se produisent en même temps in vivo.

-La voie endogène: fait intervenir uniquement des facteurs plasmatiques et plaquettaires.

-La voie exogène: déclenchée par la thromboplastine tissulaire libérée par les tissus lésés.

### *Généralités sur le mécanisme.*

La coagulation se produit par une cascade enzymatique où chaque facteur activé va activer le suivant. Les activations se font par protéolyse: c'est à dire grâce à l'activité sérine-protéase des facteurs activés (appelés donc des sérine-protéases). La théorie des complexes implique l'activation des facteurs de la coagulation après leur fixation à la surface des micelles phospholipidiques, lesquels jouent un rôle de catalyseur. Les phospholipides peuvent être d'origine tissulaire ou d'origine plaquettaire.

#### **a.Voie endogène.**

Lorsque le plasma est exposé au sous-endothélium vasculaire et à la membrane des plaquettes activées, quatre protéines plasmatiques interagissent dans une série de réactions désignées comme "réactions du système contact". C'est ainsi qu'est initiée la voie endogène.

Les plaquettes stimulées par l'ADP et le collagène ainsi que les cellules endothéliales lésées sont capables d'activer le système contact.

Les facteurs "contact" sont:

le facteur XII (FXII)=facteur Hageman

le facteur XI (FXI) =plasma thromboplastin antecedent (PTA)

la prékallicréine (PK)=facteur Fletcher

le kininogène=facteur Fitzgerald

-Le FXII va donc par contact avec une surface électronégative (sous-endothélium) être activé en FXIIa =(facteur XII activé). Cette activation correspond à une modification de sa

conformation spatiale. Il révèle ainsi une activité sérine estérasique.

Le FXIIa active alors la prékalllicréine en kalllicréine, qui à son tour peut activer le FXII. (cf. schéma p.32).

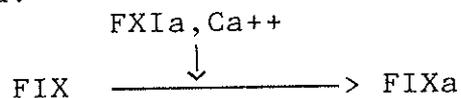
Le FXIIa active également le FXI en FXIa et le plasminogène en plasmine.

L'activation du FXI en FXIa correspond à une modification de la conformation moléculaire par une protéolyse interne.

(Les activations protéolytiques se font en présence de kininogène)

-Le FXIa révèle une activité enzymatique de type sérine-protéase. Le FXIa se forme et reste fixé à la surface de la plaquette et aux surfaces chargées électronégativement.

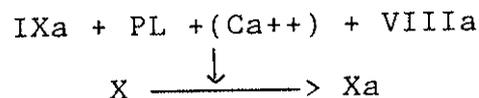
Le FXIa en présence de  $Ca^{++}$  va activer le facteur antihémophilique B = FIX en FIXa.



Le FIXa va former un complexe avec les phospholipides (PL) plaquettaires, le  $Ca^{++}$  et le facteur antihémophilique A = FVIII, préalablement activé en FVIIIa.

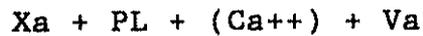
Le FVIII est un cofacteur et n'a pas d'activité sérine-protéase.

Ce complexe est appelé "Tenase" car il va être capable d'activer le facteur Stuart = FX en FXa.



Remarque: Le FVIII est associé dans le plasma au facteur Willebrand qui le véhicule sur les lieux où sa présence est nécessaire à la coagulation.

-Le FXa se fixe à son tour sur les phospholipides(PL) en présence de Ca++ et de FV =proaccélérine ayant été activé par la thrombine en FVa=accélérine. Il s'agit comme du FVIIIa, d'un cofacteur. Ce complexe constitue la **prothrombinase** obtenue par la voie endogène.



(cf.voie endogène du schéma p.32)

### b.Voie exogène.

La voie exogène est beaucoup plus rapide. Les cellules endothéliales activées de la paroi vasculaire expriment le facteur tissulaire=FT (ou thromboplastine tissulaire) constitué:

- d'une fraction phospholipidique
- d'une fraction protéique capable de se lier avec le FVII=proconvertine en présence de Ca++. Cette liaison provoque son activation en sérine-protéase (FVIIa) capable d'activer le FX.

Le FXa va s'associer à la fonction phospholipidique (PL) de la thromboplastine ainsi qu'au Ca++ et au FVa pour former un complexe: la **prothrombinase** dite exogène.



(cf. voie exogène du schéma p.32)

### c.Interaction voie endogène/voie exogène.

Le "contact" a une activation sur le FVII.Le complexe FT-VIIa stimule la voie endogène en accélérant les activations des facteurs IX et X.

### II.1.2.Thrombinoformation.

La prothrombinase est donc un complexe enzymatique formé par

- le FXa
- le FVa
- ions Ca<sup>++</sup>
- une surface phospholipidique.

Le facteur II=prothrombine est activé par le FXa en thrombine =(FIIa).

La thrombine est libérée dans le milieu, le FXa reste fixé à la surface phospholipidique et peut agir sur d'autres molécules de prothrombine.

#### Rôle de la thrombine dans la coagulation:

La thrombine occupe une place centrale dans le processus de la coagulation.

#### \* Phénomène d'amplification:

- Les premières traces de thrombine formée vont pouvoir activer les étapes initiales de la coagulation; en effet, les petites quantités de thrombine formée par l'activation de la voie exogène dès la brèche vasculaire vont activer le FV et le FVIII puis le FXI (c'est le feed-back positif).

- La thrombine est un inducteur de l'agrégation et de la sécrétion plaquettaire.

- La thrombine assure l'activation du FXIII en présence de Ca<sup>++</sup>.

#### \* La thrombine permet la formation de fibrine.

### II.1.3 .fibrinoformation.

Le fibrinogène=FI, substrat final de cette cascade enzymatique est une protéine plasmatique soluble qui va se transformer en FIIa=fibrine sous l'action protéolytique de la thrombine en trois étapes:

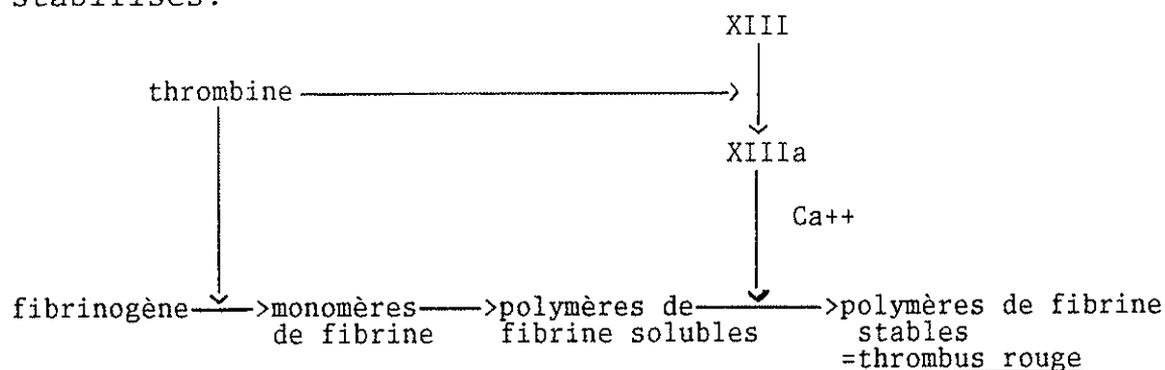
-La thrombine scinde la molécule de fibrinogène et libère des monomères de fibrine.

-Ces monomères s'associent entre eux par liaisons électrostatiques formant un polymère de fibrine instable.

-Intervention du FXIII:facteur stabilisateur de la fibrine .

Le FXIII est présent dans le plasma et les plaquettes sous forme inactive. Il est activé par la thrombine en présence de Ca<sup>++</sup>.

Le FXIIIa va agir en créant des liaisons covalentes entre les monomères de fibrine pour donner des polymères de fibrine stabilisés.



### II.2. Origine des facteurs de la coagulation.

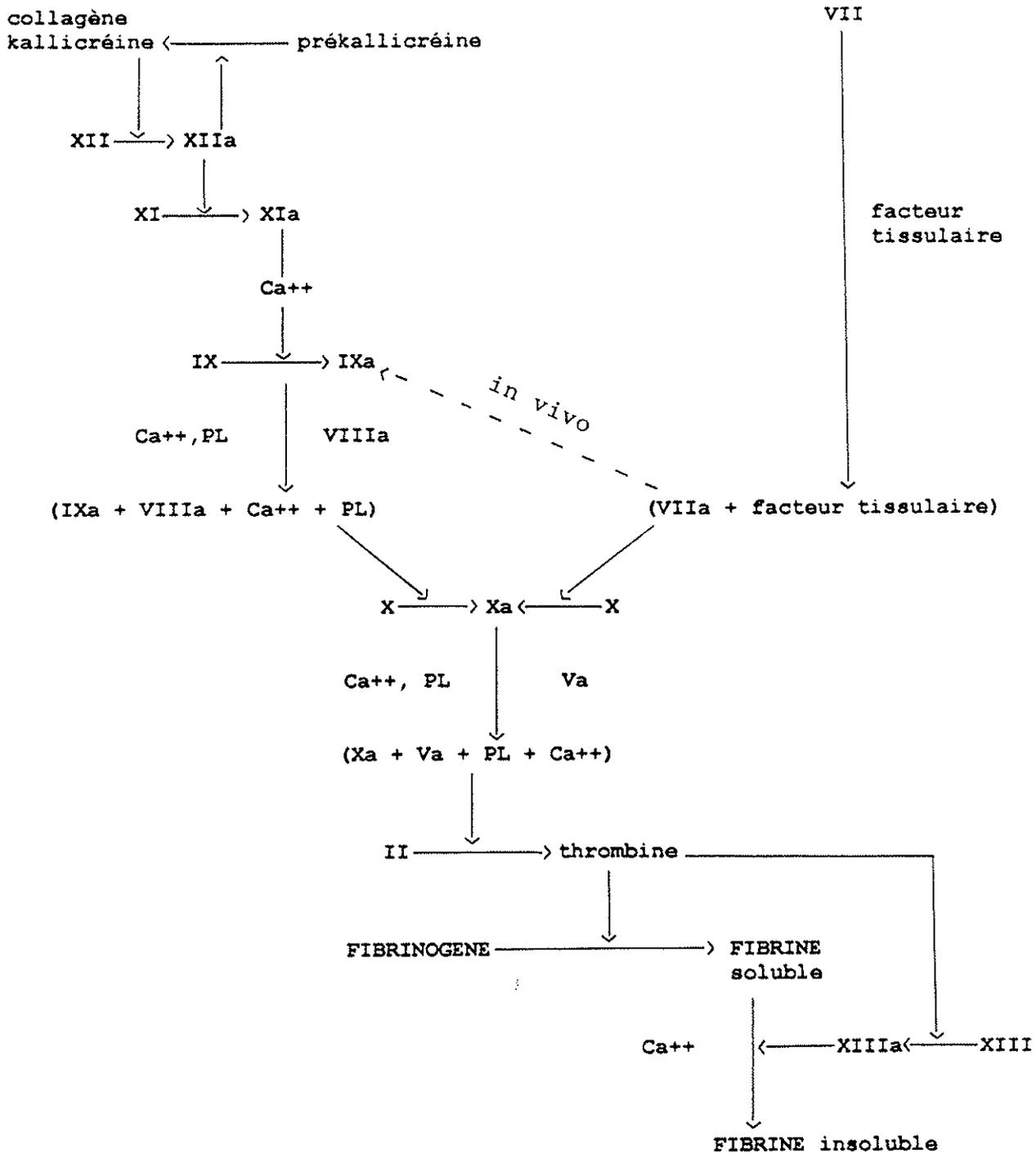
La plupart des facteurs de la coagulation est synthétisée dans le foie. Il s'agit des facteurs I, II, V, VII, IX, X, XI, XII.

La synthèse de certains de ces facteurs nécessite la vitamine K. Il s'agit des facteurs II, VII, X, IX. L'action de la vitamine K permet à ces facteurs de se fixer sur les phospholipides par l'intermédiaire du calcium.

Schéma récapitulatif de la coagulation plasmatique

Voie endogène

Voie exogène



### II.3. Inhibition de la coagulation plasmatique.

L'existence dans le sang d'inhibiteurs physiologiques de la coagulation a d'abord été soupçonnée. Différents inhibiteurs à activité antithrombine ont ensuite été identifiés. On retient maintenant l'antithrombine à action progressive = ATIII, ou cofacteur de l'héparine, et plus récemment un autre cofacteur de l'héparine a été identifié: l'héparine-cofacteur II.

D'autres inhibiteurs possèdent une activité antithrombine mais celle-ci est plus faible que celle de l'ATIII: c'est l'alpha-1 antitrypsine et l'alpha-2-macroglobuline.

#### **II.3.1. Les serpins: "serine protease inhibitors".**

##### **a. ATIII.**

L'ATIII est une alpha-2 globuline plasmatique, de masse moléculaire 58000 D, synthétisée par le foie et les cellules endothéliales. Sa concentration plasmatique est de 300 mg/l = 2 micro. mol/l. Sa demi vie est de trois jours (10).

L'ATIII est un inhibiteur physiologique plasmatique très important. Elle inhibe la thrombine et également les autres sérine-protéases: Xa, IXa, XIIa et XIa. Elle n'a pas d'activité sur le facteur VII.

##### Action sur la thrombine.

L'ATIII se lie par son site arginine sur le site sérine de la thrombine formant un complexe thrombine-antithrombine III inactif et irréversible. La vitesse de réaction est lente, mais en présence d'héparine, cette cinétique est plus rapide. L'héparine accélère la réaction thrombine-ATIII en jouant un rôle de

catalyseur. (cf. Chapitre III : mécanisme de l'action anticoagulante).

#### b. Autres antithrombines.

\* Héparine-cofacteur II =HCII.

Il forme un complexe stable avec la thrombine. Il possède une activité antithrombinique plus étroite que l'ATIII puisqu'il ne semble actif que sur le FIIa.

L'inhibition de la thrombine par l'HCII est beaucoup plus lente qu'avec l'ATIII, cependant elle est accélérée en présence de fortes concentrations d'héparine.(10)

\* Alpha-1-antitrypsine:peut aussi inhiber le F XIa et la plasmine.

\* Alpha-2-macroglobuline: inhibe aussi la Kallicréine et la plasmine.

#### c. Le C1 inhibiteur.

C'est l'inhibiteur de la C1 esterase. Il possède des propriétés inhibitrices importantes dirigées contre les facteurs XIIa, XIa et la kallicréine, (donc dans la phase contact), et contre la plasmine.

#### II.3.2. Le système Protéine C - Protéine S.

La protéine C est synthétisée dans le foie en présence de vitamine K. Elle est le précurseur d'une sérine protéase: la protéine C activée qui inhibe les facteurs Va et VIIIa.

La protéine C est activée par le FIIa préalablement fixée sur la thrombomoduline ( cofacteur) de la cellule endothéliale.

La thrombine liée à la thrombomoduline perd son activité coagulante.

L'inhibition de l'activité des facteurs Va et VIIIa par la protéine C activée se fait à la surface des phospholipides membranaires en présence de calcium et d'un cofacteur: la protéine S. La protéine S est également une protéine à synthèse vitamine K dépendante.

### II.3.3.L'inhibiteur de la voie extrinsèque.

Cet inhibiteur est de connaissance récente. On l'appelle TFPI:Tissue Factor Pathway Inhibitor. Il est actif sur le complexe Facteur tissulaire-facteur VII en présence du facteur Xa.

### III.LA FIBRINOLYSE.

La fibrinolyse est un processus physiologique permettant la dissolution du caillot de fibrine par l'action protéolytique d'une enzyme: la plasmine, et la reperméabilisation du vaisseau.

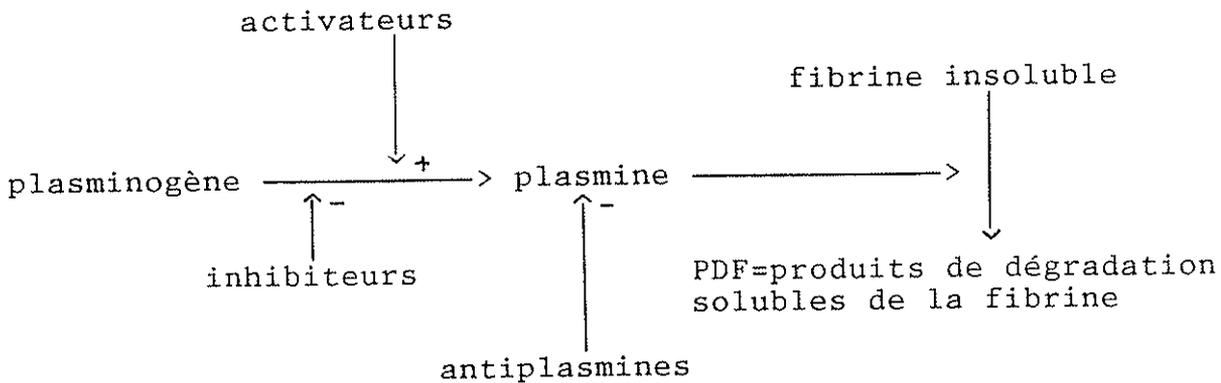
La fibrinolyse se déroule en deux étapes:

- Formation de plasmine par activation d'un précurseur inactif: le plasminogène.

- Dégradation de la fibrine et par extension du fibrinogène.

La plasmine peut aussi dégrader d'autres protéines de la coagulation: les facteurs V, VIII, XII, XIII.

Le système fibrinolytique présente de nombreuses analogies avec celui de la coagulation: il comporte de nombreux activateurs et inhibiteurs, des enzymes appartenant au groupe des sérine-protéases, des inhibiteurs appartenant au groupe des serpinés (serine-protéases inhibitors).



### III.1. Activation du plasminogène en plasmine.

Le plasminogène est une glycoprotéine constituée d'une seule chaîne peptidique. Il est synthétisé dans le foie. Sa demi-vie est de deux à trois jours.

Il existe dans le plasma sous forme libre ou complexé à des protéines. Lors de la coagulation, 5 à 10 % du plasminogène se lie à la fibrine.

Il va être transformé en plasmine par une série d'activateurs qui agissent tous en hydrolysant une liaison peptidique pour donner une molécule de plasmine composée de deux chaînes reliées par un pont disulfure.

L'activation physiologique du plasminogène se fait selon la voie dite endogène, par opposition à la voie d'activation induite par des agents thrombolytiques (Streptokinase) utilisés en thérapeutique, et appelée voie exogène.

Nous ne présenterons que la voie endogène.

Il est possible de distinguer, comme pour la coagulation, une voie intrinsèque et une voie extrinsèque.

\* Voie extrinsèque.

Elle fait intervenir le t-PA: activateur tissulaire du plasminogène.

Ce facteur est présent dans de nombreux tissus:glandes surrénales, ovaires, poumons ...ainsi que dans les cellules endothéliales vasculaires où il est synthétisé. Il est libéré dans le sang, où il est présent à l'état de traces, sous l'effet de différents stimuli.

Action du t-PA:

Lors de la formation de fibrine, une petite quantité du plasminogène est fixée;le t-PA se fixe aussi sur la fibrine, ce n'est que lorsque ces deux molécules sont adsorbées sur la fibrine que l'activateur active le plasminogène en plasmine, qui commence alors la digestion protéolytique de la fibrine.

\* Voie intrinsèque.

- Activation facteur XII dépendante.

Il s'agit de l'intervention d'un activateur qui apparait au cours de la phase de contact de la coagulation intrinsèque et qui met en jeu le système des kinines.

le système est autocatalytique puisque la plasmine, comme la kallikréine permet la transformation du FXII en FXIIa.

- Urokinase et pro-urokinase.

L'urokinase est produite par les cellules rénales.Elle est un activateur direct du plasminogène.Le processus d'activation de la pro-urokinase en urokinase in vivo est identique à celui du t-PA.

### III.2. Inhibition de la fibrinolyse.

La plasmine doit être inhibée pour qu'il n'y ait pas de traces circulantes qui pourraient protéolyser le facteur IX et les autres facteurs de la coagulation.

Ces inhibiteurs sont de deux ordres:

- ceux qui inhibent l'activation du plasminogène.
- ceux qui inhibent la plasmine formée: les antiplasmines.

#### \* Les antiactivateurs.

- *Inhibiteurs de la voie intrinsèque.*

- ATIII
- C1-Inhibiteur
- Anti FXIIa

- *Inhibiteurs de la voie extrinsèque.*

Ce sont les PAI: inhibiteurs des activateurs du plasminogène

- PAI<sub>1</sub>, PAI<sub>2</sub>: forment des complexes avec le t-PA et l'urokinase qui les inactivent.
- PAI<sub>3</sub>: inhibe spécifiquement l'urokinase.

#### \* Les antiplasmines

- alpha-2-antiplasmine: inhibiteur le plus puissant et très rapide.
- alpha-2-macroglobuline: inactive la plasmine en excès lorsque l'alpha-2 antiplasmine est saturée.
- alpha-1-antitrypsine: inhibiteur lent et progressif de la plasmine et de la thrombine.
- ATIII

### III.3. Fibrinolyse.

La fibrinolyse est confinée à la surface de la fibrine. Une petite quantité de plasminogène est adsorbée par la fibrine, et l'activation à ce niveau, s'effectue sous l'action de l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA), à l'abri de la puissante et rapide alpha-2-antiplasmine présente dans le plasma: à chaque fois qu'une molécule de plasmine s'échappe, une molécule d'antiplasmine vient l'inhiber.

La réaction de fibrinolyse est déclenchée par la fibrine elle-même puisqu'elle accélère considérablement la vitesse de réaction entre l'activateur tissulaire du plasminogène et le plasminogène.

L'action de la plasmine sur la fibrine produit des PDF: produits de dégradation de la fibrine, solubles dans le plasma.

## CHAPITRE II

## LES HEPARINES

\*\*\*\*\*

I. Origine. Préparation.

II. Structure.

II.1. Généralités.

II.2. HNF.

II.3. HBPM.

III. Principales héparines.

III.1. HNF.

III.2. HBPM.

IV. Propriétés de l'héparine.

IV.1. Caractères physicochimiques.

IV.2. Propriétés pharmacologiques.

IV.2.1. Héparine et métabolisme des lipides.

IV.2.2. Rôle dans la fibrinolyse.

IV.2.3. Action sur les cellules musculaires lisses.

IV.2.4. Action antiinflammatoire.

IV.2.5. Héparine et cellules endothéliales.

IV.2.6. Rôle dans l'athérosclérose.

IV.2.7. Héparine et facteur de croissance.

IV.2.8. Activité antivirale.

IV.2.9. Action sur les plaquettes.

IV.2.10. Divers.

IV.3. Propriétés pharmacocinétiques.

IV.3.1. Devenir, élimination.

IV.3.2. Biodisponibilité.

IV.3.3. Demi-vie.

\*\*\*\*\*

## I. ORIGINE - PREPARATION.

A l'état physiologique, l'héparine est associée à l'histamine dans les granulations des mastocytes tissulaires et des polynucléaires neutrophiles circulants.

L'héparine est donc retrouvée dans de nombreux tissus. L'héparine libre circulante est une notion très contestée (sauf dans le choc anaphylactique où la libération d'héparine s'effectuerait conjointement à celle de l'histamine). La présence d'héparine dans un tissu est fonction de sa richesse en mastocytes.

Les héparines commerciales sont extraites soit à partir de la muqueuse intestinale de porc, soit à partir de poumon de boeuf.

Plusieurs étapes se succèdent dans la préparation:

- Une extraction tissulaire par protéolyse en milieu basique.
- Une purification par précipitation à l'aide d'ammonium quaternaire: l'héparine très acide fixe l'ammonium IV, les sels formés très insolubles sont ainsi séparés.
- Une dépyrogénéation, une décoloration puis une élimination des réactifs sont les étapes finales.

## II. STRUCTURE.

### II.1. Généralités (structures communes aux héparines non fractionnées (HNF) et aux héparines de bas poids moléculaires (HBPM))

L'héparine est un glycosaminoglycane sulfaté composé d'un mélange de chaînes hétérogènes en composition chimique et en taille moléculaire.

Les chaînes sont formées par un enchainement de glucides (des disaccharides) sur lesquels sont fixés des restes aminés, des restes sulfatés, des restes acétylés en position et nombre variables sur la chaîne.

\* Structure de base.

Les chaînes glucidiques sont composées d'une alternance de D-glucosamine et d'acides uroniques: soit l'acide glucuronique, soit l'acide L-iduronique, diversement substitués (10):

Acide uronique-- D-glucosamine-- Acide uronique-- D-glucosamine

Des disaccharides dits "réguliers" sont de temps à autres interrompus par des disaccharides dits "irréguliers".

\* Site de liaison.

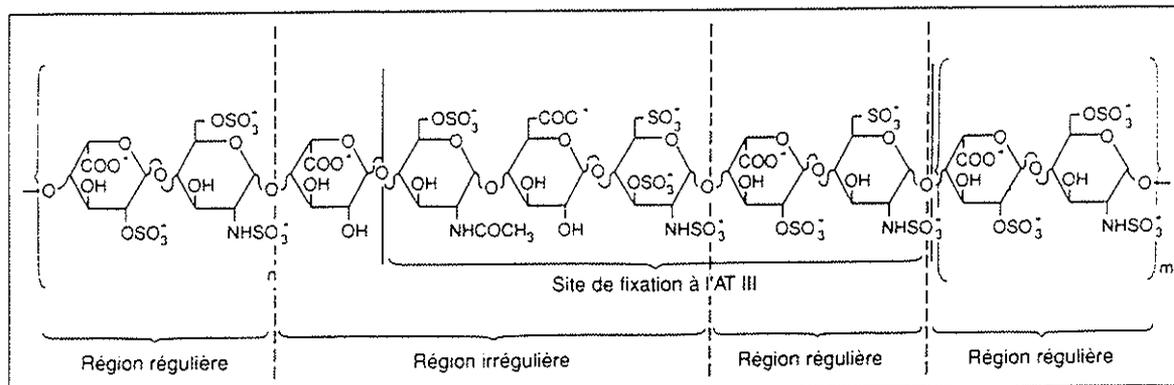
Sur 40% des chaînes, l'arrangement particulier de saccharides réguliers et irréguliers constitue le site de reconnaissance et de fixation de l'héparine à l'antithrombine-III (21).

En effet l'héparine exerce son activité anticoagulante en présence d'antithrombine-III dont elle potentialise l'effet inhibiteur sur les sérine-protéases de la coagulation.

Cette fraction de l'héparine, qui était appelée forme HA=hautelement active, représente 85% de l'activité anticoagulante.

Après séparation par chromatographie d'affinité pour l'antithrombine-III, et par dépolymérisation enzymatique, Choay en 1980, précise la structure du site minimal de liaison de l'héparine. C'est un pentasaccharide de poids moléculaire moyen=1700 D.

Schéma d'une molécule d'héparine (21)



L'autre fraction de l'héparine (c'est à dire 60% de l'héparine de départ) ne se fixe pas sur l'antithrombine-III. Elle possède seulement 15% de l'activité anticoagulante. C'est la fraction autrefois appelée forme FA=faiblement active.

## II.2.L'héparine non fractionnée (HNF).

Les HNF ont un poids moléculaire allant de 3000 à 45000 D, avec un pic de distribution maximum entre 15000 et 20000 D.

## II.3.Les héparines de bas poids moléculaire (HBPM).

Les procédés de préparation des HBPM reposent sur la coupure de liaisons interglycosidiques de l'héparine standard, par dépolymérisation contrôlée en utilisant soit une méthode enzymatique (l'héparinase), soit une méthode chimique (hydrolyse alcaline ou par l'acide nitrique)

Fraxiparine<sup>R</sup> (nadroparine)...dépolymérisation par l'acide nitreux

Fragmine<sup>R</sup> (daltéparine).....dépolymérisation par l'acide nitreux

Lovenox<sup>R</sup> (énoxaparine).....dépolymérisation d'un ester benzylique de l'héparine

Clivarine<sup>R</sup> (reviparine).....digestion par l'acide nitreux

Logiparine<sup>R</sup> (tenzaparine).....digestion par l'héparinase  
(14)

\* Principes de préparation des HBPM

- L'acide nitreux provoque une désamination des résidus glycosamines, il s'en suit une rupture des ponts glucosidiques (Fragmine et Fraxiparine).

- La bêta-élimination des esters d'héparine consiste en un clivage alcalin des ponts glycosidiques accompagné de l'hydrolyse des groupes esters (Lovenox).

- La méthode enzymatique avec l'héparinase permet la rupture des ponts alpha-(1,4)-glycosidiques, libérant en bout de chaîne un acide uronique insaturé (Logiparine). (31)

Les poids moléculaires des différents fragments ainsi obtenus sont plus faibles et moins dispersés que pour l'HNF, ils varient entre 2000 et 10000 D.

HBPM	PM moyen	Polysaccharides entre 3000 et 8000 D (%)
Fragmine	5000	75
Fraxiparine	4500	65
Lovenox	4000	55
Clivarine	3900	
Logiparine	5500	55
Sandoparine	6000	

(14)

\* Les différentes HBPM sont-elles équivalentes?

Les différents procédés de préparation employés aboutissent à des produits de distribution de poids moléculaires différentes, de

densité de charge différentes...et ils pourraient donc, pour cela avoir chacun leurs propres propriétés pharmacocinétiques, pharmacologiques et toxicologiques, qui pourraient avoir d'importantes répercussions cliniques (14) :phénomènes mis en avant par chaque fabricant. Concernant les différentes méthodes de fabrication et leurs conséquences, certains chercheurs ont montré quelles n'étaient pas applicables à leurs activités antithrombotiques influencées en priorité par le poids moléculaire. (4)

Les différences de poids moléculaires semblent pouvoir être minimisées in vivo pour deux raisons:

- les chaînes de haute affinité ont une distribution plus étroite que celles de basse affinité et les différences de poids moléculaires des molécules de haute affinité sont moindre que celles apparaissant sur le matériel total.

- après une injection sous-cutanée il y a un effet de "filtration": les molécules de plus haut poids moléculaire étant les moins absorbées.Cela s'applique aux activités anticoagulantes; pour des produits tels que Logiparine avec une activité antithrombine relativement élevée, les molécules de haut poids moléculaire responsables de cette activité seront moins absorbées.

Bien qu'aucune mesure directe ne puisse être faite, il semble fortement qu'après une injection sous-cutanée, les poids moléculaires et les activités anticoagulantes des molécules actives des différents produits soient très similaires.

D'un point de vue clinique, il n'y aurait donc aucune différence entre les HBPM quant à leurs efficacité et sécurité.(4)

### III. PRINCIPALES HEPARINES COMMERCIALISEES.

#### III.1. HNF.

Différents sels d'héparine sont utilisés en thérapeutique en fonction de la voie parentérale d'administration:

\* voie veineuse: (héparinate de sodium)

Héparine CHOAY

HEPARINE SODIQUE LEO 1ml= 5000 UI

HEPARINE SODIQUE PANPHARMA

HEPARINE SODIQUE DAKOTA Pharm 5ml= 500 UI  
(pour héparinisation des circuits de perfusion).

\* voie sous-cutanée: (héparinate de calcium)

Calciparine SOUS-CUTANEE

HEPARINE CALCIQUE LEO 1ml= 25.000 UI

HEPARINE CALCIQUE PANPHARMA

La voie intramusculaire ne doit jamais être utilisée.

Les sels de lithium sont utilisés comme anticoagulant des prélèvements sanguins.

#### III.2. HBPM.

Leur utilisation se fait par voie sous-cutannée uniquement.

-Nadroparine (DCI) = FRAXIPARINE Laboratoire Choay

-Daltéparine (DCI) = FRAGMINE Laboratoire Kabi-Pharmacia

-Enoxaparine (DCI) = LOVENOX Laboratoire Bellon

-Reviparine (DCI) = CLIVARINE Laboratoire Knoll France (37)

## IV. PROPRIETES DE L'HEPARINE.

### IV.1. Caractères physicochimiques.

L'héparine se présente sous forme d'une poudre blanche, modérément hygroscopique et facilement soluble dans l'eau.

Caractères physiques essentiels:

\* polyanionicité et forte densité de charge.

En effet chaque disaccharide porte trois à quatre charges négatives provenant des groupements sulfates et de la fonction carboxylique de l'acide uronique.

L'héparine est sans contexte la macromolécule naturelle possédant la plus forte densité de charge. Cependant cette anionicité n'est pas régulière le long de la chaîne polysaccharidique. Certaines régions constituées de disaccharides peu sulfatés ont une densité de charge plus faible. D'autres, résultant de la répétition consécutive de plusieurs disaccharides réguliers, ont un taux de sulfate plus élevé et constituent des régions de forte densité anionique.

\* flexibilité conformationnelle:

Des études de résonance magnétique nucléaire ont montré que les résidus iduroniques sont susceptibles de prendre des conformations différentes. Ce phénomène confère à la molécule d'héparine une "flexibilité conformationnelle" particulière que n'ont pas d'autres macromolécules polyanioniques.

Il en résulte que ces caractéristiques permettent à l'héparine de se lier à la fois facilement et fortement à une série de constituants biologiques présents dans le plasma ou les tissus et portant des charges positives : polypeptides, protéines,

lipoprotéines, phospholipides. Elle modifie alors leur fonctionnalité biologique initiale en les déplaçant de leur site habituel et/ou en les empêchant de se fixer sur les récepteurs. Ce mécanisme d'action rend compte, à l'heure actuelle de la presque totalité des activités pharmacologiques de l'héparine.(21)

#### **IV.2. Propriétés pharmacologiques (autres que l'action anticoagulante).**

##### **IV.2.1. Héparine et métabolisme des lipides.**

L'héparine provoque l'apparition dans le sang d'un "facteur clarifiant" capable d'agir sur les chylomicrons responsables de la lactescence du plasma post-prandiale. On sait maintenant que l'héparine provoque l'apparition dans le sang de deux lipases (21), la LPL (lipoprotéine lipase) libérée essentiellement au niveau des tissus musculaires et adipeux; la LH( lipase hépatique) provenant du foie. Ces enzymes sont capables d'hydrolyser un grand nombre de glycérides (tri, di, mono) et d'acides gras.

L'héparine n'a pas d'effet activateur vis à vis des lipases mais son action favorise le décrochage de ces enzymes de leur site d'ancrage naturel (probablement les glycosaminoglycanes extracellulaires présents à la surface de l'endothélium capillaire), et augmente leur temps de demi-vie sanguine.

Il en résulte une vitesse de disparition des glycérides accrue (d'où le phénomène de clarification rapide du plasma), une production d'acides gras non estérifiés pris en charge par la sérum albumine et la libération de remnants: chylomicrons ou particules de VLDL ayant perdu la plupart de leurs triglycérides.

Les acides gras et les remnants sont ensuite captés par le foie où ils participent à la biosynthèse des LDL et des HDL.

La résultante de ce processus est un abaissement du taux de VLDL et de la concentration en chylomicrons et une augmentation concomitante du taux de LDL et de HDL. (21)

#### **IV.2.2. Rôle dans la fibrinolyse.**

Un effet profibrinolytique de l'héparine a été présenté depuis longtemps comme participant à des degrés divers à son activité antithrombotique.

Actuellement, on a peu de certitudes sur la part réelle de l'héparine dans la fibrinolyse.

Des travaux réalisés in vitro montrent que l'héparine diminue le temps de lyse des euglobulines par l'activation du système fibrinolytique endogène via le facteur XII et la kallicréine, et que l'héparine altère la structure du réseau de fibrine constituant le caillot, ce qui le rend plus sensible à l'action de la plasmine (21). De plus il a été également montré que in vitro l'HNF potentialise l'activation du plasminogène par le tPA ou par l'urokinase. In vivo, ces résultats seraient retrouvés mais de façon moins nette. De ce fait, un consensus semble se dégager en faveur de l'utilité de l'héparine comme traitement adjuvant aux traitements thrombolytiques à l'urokinase ou au tPA.

#### **IV.2.3. Action sur les cellules musculaires lisses (CML)**

Dans la paroi artérielle saine, à l'état normal, les CML composant la média sont à l'état quiescent. La lésion de la mono couche de cellules endothéliales constituant l'intima (par un acte chirurgical par exemple) déclenche une prolifération des CML dans

la média, suivie à très court terme d'une migration de ces dernières dans l'intima. Cette prolifération myointimale a pour conséquence une obstruction plus ou moins importante de la lumière vasculaire et une formation de plaque d'athérome. Des expériences montrèrent que l'héparine infusée chez le rat en continu à raison de 0,5mg/Kg/h pendant quatorze jours inhibait remarquablement la prolifération myointimale. Ce mécanisme d'inhibition est encore inconnu, mais semble totalement indépendant de l'activité anticoagulante (21).

#### **IV.2.4. Action antiinflammatoire.**

Cette action est due à l'interaction de l'héparine avec la cascade enzymatique du complément. Elle exerce des inhibitions à plusieurs niveaux du processus d'activation du complément. Ce phénomène a été récemment mis en évidence dans un modèle animal. Il a même été constaté in vivo des effets modulateurs de la réponse immunitaire, des inhibitions de réaction d'hypersensibilité retardée après injection d'héparine. Ces phénomènes relèveraient du même mécanisme que l'interaction sur le complément (21).

#### **IV.2.5. Héparine et cellules endothéliales.**

L'endothélium des vaisseaux est doté de charges électronégatives qui contribuent à le rendre résistant au processus thrombotique. L'héparine possède la faculté de se fixer sur les cellules endothéliales, elle accroît ainsi les charges électronégatives de la surface endothéliale, augmentant ainsi son potentiel antithrombotique (15).

#### IV.2.6. Rôle dans l'athérosclérose.

Ce rôle est la conséquence de l'action de l'héparine sur plusieurs paramètres déjà cités:

- action sur l'endothélium vasculaire qui prévient le processus de thrombose et diminue la capacité d'adhérence des plaquettes aux cellules endothéliales.
- effet clarifiant du sérum.
- inhibition de la prolifération des CML mais aussi de l'effet des médiateurs libérés lors d'une lésion vasculaire (histaminine, bradykinine, angiotensine).
- inhibition de la genèse de la thrombine, des processus de coagulation et de thrombose.(10)

#### IV.2.7. Héparine et facteurs de croissance.

Certains facteurs de croissance, ceux en particulier possédant une activité mitogénétique à l'égard des cellules endothéliales et des fibroblastes: FGF (fibroblast growth factors) et ECGF (endothelial cell growth factor), manifestent une haute affinité pour l'héparine. Cette affinité ne provient pas d'un site de reconnaissance sur l'héparine, mais elle fixe ces facteurs au niveau des régions de forte densité anionique. L'effet de cette interaction est mal connu. Mais une potentialisation de l'effet mitogène des FGF à l'égard de plusieurs types cellulaires; cellules endothéliales, vasculaires, fibroblastes a été rapportée.(21)

L'héparine aurait donc des propriétés favorisantes sur la cicatrisation, et plus généralement sur le processus de régénération cellulaire.

#### IV.2.8. Activité antivirale.

Il a été montré que l'héparine pouvait inhiber in vitro la cytopathogénicité du VIH à l'égard des lymphocytes T4. Des travaux ultérieurs ont montré que l'héparine agissait lors de la phase d'absorption du virus sur la paroi du lymphocyte T4 en l'inhibant. Mais elle a peu d'effet sur le mode essentiel de multiplication du VIH in vivo; la formation de syncytia.

Donc, en raison de son effet sur la coagulation, l'héparine classique ne présente pratiquement que peu d'intérêt pour la prophylaxie ou le traitement des différents stades de sida. En revanche, des fragments d'héparine dépourvus d'effet anticoagulant et possédant une activité anti-VIH très supérieure à la molécule initiale, plus particulièrement vis-à-vis de la formation de syncytia, sont actuellement en cours d'évaluation.(21).

#### IV.2.9. Action sur les plaquettes.

Dans les années 70, deux types de site de liaison sur l'héparine ont été mis en évidence:

- 1 site se liant soit, et de préférence avec l'ATIII  
soit avec les plaquettes.

- 1 autre site se liant aux plaquettes

Ainsi, les fractions de BPM à haute affinité pour l'ATIII ne réagissent pas avec les plaquettes.

Celles de BPM à faible affinité pour l'ATIII réagissent avec les plaquettes.

Les fractions de HPM sont assez importantes pour offrir des sites de liaison aux plaquettes et à l'ATIII.

Des essais ont d'ailleurs démontré, in vitro, que l'interaction des plaquettes avec les HBPM est moins forte qu'avec l'HNF.

Ainsi l'héparine réagirait avec les plaquettes amenant une thrombopénie très modérée et transitoire (dans le cas général).

Il est d'ailleurs connu que l'HNF est capable soit d'entraîner une agrégation des plaquettes, soit de potentialiser l'agrégation plaquettaire induite par divers agents agrégants. (15)

Ceci expliquerait peut-être en partie la chute des plaquettes observée au cours d'une CEC ou d'une hémodialyse.

#### **IV.2.10 .Divers.**

L'héparine aurait d'autres actions non encore totalement élucidées, comme par exemple une action stimulatrice sur l'angiogénèse (croissance de nouveaux vaisseaux capillaires) et des actions au niveau de certains autres systèmes biochimiques(21)

#### Conclusion.

En dehors de l'activité anticoagulante, l'héparine est dotée de nombreuses propriétés pharmacologiques s'expliquant par les caractéristiques physicochimiques de la molécule. Ce qui veut dire que l'action pour laquelle elle est utilisée en thérapeutique (action anticoagulante) n'est pas spécifique. Mais cela n'est pas un inconvénient lors de l'utilisation thérapeutique habituelle, dans la prévention ou le traitement des thromboses, car les propriétés non anticoagulantes qui se manifestent alors principalement: effet profibrinolytique, effet sur le métabolisme des lipides, effet antiinflammatoire, effet antiprolifératif vis-à-vis des CML contribuent( à des degrés divers) au résultat final du traitement.

Par contre pour l'utilisation particulière d'une de ces propriétés (non anticoagulantes), l'action anticoagulante serait un effet secondaire inacceptable (par exemple pour l'action antivirale). Il faudrait pouvoir augmenter la spécificité de l'héparine dans la manifestation de l'effet recherché. On sait aujourd'hui préparer des fragments d'héparine dépourvus de toute activité anticoagulante, et des travaux actuellement en cours sur les mécanismes précis d'action des glycosaminoglycanes et de l'héparine dans les domaines abordés ci-dessus permettront sûrement de préparer des dérivés beaucoup plus actifs que la molécule d'origine.

#### **IV.3. Propriétés pharmacocinétiques des héparines.**

Administrée par os, l'héparine ne peut franchir la barrière digestive: seule la voie parentérale (IV ou SC) peut être utilisée en thérapeutique.

##### **IV.3.1. Devenir, élimination.**

L'héparine ne franchit pas les séreuses (péritoine, plèvres, méninges) ni la barrière foetoplacentaire (elle peut être utilisée chez la femme enceinte). (10)

L'HNF est éliminée du sang par la combinaison de deux mécanismes de "clearance":

- l'un est saturable, représenté par un système cellulaire à forte affinité pour l'HNF, constitué par les cellules endothéliales des vaisseaux, prépondérant après administration de faibles doses.

- l'autre, non saturable, représenté par le rein, intervenant après saturation du précédent système, donc après administration de fortes doses.

.Le mécanisme saturable est peu impliqué dans l'élimination des HBPM du fait de la moins grande affinité de l'endothélium pour ce type d'héparine. Les HBPM sont éliminées par la voie rénale de façon prépondérante quelle que soit la dose utilisée.

Chez l'insuffisant rénal, les HBPM peuvent engendrer un risque de surdosage par accumulation qui est négligeable avec l'HNF.(15)

.L'HNF présente une décroissance de l'activité biologique plasmatique biexponentielle selon un modèle à deux compartiments (dont l'un est saturé aux doses thérapeutiques). En revanche, les HBPM sont définies par un seul compartiment non saturable ce qui explique que la demi-vie de l'activité biologique est indépendante de la posologie utilisée et ce, contrairement à l'HNF (pour qui la demi-vie est fonction de la posologie).(31)

#### IV.3.2 .Biodisponibilité

##### \* Absorption.

Les molécules de haute affinité pour l'ATIII existent sous deux formes fonctionnelles différentes:

- molécules en-dessous de la longueur critique: below critical length molecules (BCLM), possédant cinq à dix-sept monosaccharides, de poids moléculaire inférieurs à 5400 D; elles catalysent l'inhibition du facteur Xa mais pas celle de la thrombine.

- molécules au-dessus de la longueur critique: above critical length molecules (ACLM), possédant au moins dix-huit

monosaccharides de poids moléculaire supérieur à 5400 D; elles catalysent l'inhibition des deux facteurs Xa et IIa.(10)

Toutes les chaînes des HNF sont des ACLM, tandis que les HBPM contiennent une forte proportion de BCLM. Les HBPM ont donc des propriétés pharmacocinétiques favorables par rapport à l'HNF: les BCLM étant absorbées dans une beaucoup plus grande proportion que les ACLM après une administration sous-cutanée.(4)

\* interaction avec les protéines et les cellules.

L'antithrombine est la seule protéine nécessitant une séquence polysaccharidique spécifique pour sa liaison à l'héparine; pour la plupart des autres protéines, l'affinité de la liaison dépend de la densité de charge de la chaîne d'héparine qui diminue avec son poids moléculaire. Plusieurs protéines neutralisent l'activité anti coagulante de l'héparine: les plus importantes sont le PF4 (facteur plaquettaire 4) et la protamine. Les HBPM demandent plus de PF4 ou de protamine pour neutraliser leur activité anticoagulante, que l'HNF. En outre, les protéines de la paroi des vaisseaux sont relarguées en plus faible quantité par une injection d'HBPM que par une injection d'HNF à cause de leur plus faible affinité.(4)

La liaison avec les molécules endothéliales est également diminuée pour les HBPM. De même les interactions avec les plaquettes sont moins fortes avec les HBPM qu'avec l' HNF.

Tous ces facteurs sont la cause de la différence de biodisponibilité entre l'HNF et les HBPM.

Par voie sous-cutanée (SC), la biodisponibilité des HBPM est d'au moins 90%,parfois 100% pour certains auteurs, alors que celle de l'HNF n'est que de 25 à 30%.(14)

#### IV.3.3 .Demi-vie.

L'avantage des HBPM dans le traitement prophylactique de la maladie thromboembolique est basé sur la durée de leur demi-vie plasmatique, deux à quatre fois plus longue que celle de l'HNF après injection intraveineuse ou souscutanée. Elle est de trois à quatre heures (selon les préparations pharmaceutiques) pour les HBPM, comparée à quatre-vingt-dix ou cent-vingt minutes pour l'HNF en injection sous-cutanée, et de deux heures comparée à quarante-cinq ou soixante minutes en injection intraveineuse (4).

En outre, la demi-vie d'élimination de l'activité anti-IIa est parallèle à celle de l'activité anti-Xa pour l'HNF, alors que l'activité anti-IIa pour une HBPM disparaît plus rapidement du plasma après injection souscutanée que l'activité anti-Xa.

Ceci est un élément important dans la discussion actuelle sur le rôle respectif des activités anti-Xa et anti-IIa dans la prophylaxie de la thrombose.

Ces propriétés de biodisponibilité et de demi-vie différentes pour les HBPM et l'HNF constituent des différences majeures et primordiales pour les méthodes d'emploi en thérapeutique.

## CHAPITRE III

## MECANISME DE L'ACTION ANTICOAGULANTE

\*\*\*\*\*

## Introduction

I. Interaction de l'héparine avec les facteurs de la coagulation.

II. Différence d'activité entre l'HNF et les HBPM.

III. A quelle activité est liée l'action antithrombotique?

III.1. Hypothèses anciennes.

III.2. Action antithrombotique de l'activité anti-Xa.

III.3. Importance et prépondérance de l'activité anti-IIa

III.4. Rôle de l'activité anti-Xa.

IV. Interaction héparine/plaquettes.

\*\*\*\*\*

## Introduction

Les héparines sont activées par l'intermédiaire de deux cofacteurs différents : l'antithrombine-III = ATIII, et le deuxième cofacteur de l'héparine = HCII. Avant d'analyser le mécanisme d'activation de l'héparine on peut faire deux remarques :

- une activité de type héparine est retrouvée à la surface de l'endothélium vasculaire avec les glycosaminoglycanes: héparan et dermatan sulfates doués de propriétés anticoagulantes et agissant également par l'intermédiaire des deux cofacteurs de l'héparine. Ainsi l'action de l'héparine a-t-elle sa correspondance physiologique au niveau de l'endothélium vasculaire.(31)

- le deuxième point concerne l'importance respective des deux cofacteurs de l'héparine: ATIII et HCII. Dans les phénomènes de coagulation normale, l'ATIII prend en charge 65% environ de la thrombine formée alors que l'HCII ne se lie qu'à 10% de celle-ci, le reste étant neutralisé par l'alpha-2-macroglobuline. En revanche, en présence d'héparine, la proportion de la thrombine neutralisée par l'ATIII augmente très notablement et seule une faible concentration de thrombine est liée à l'HCII et à l'alpha-2 macroglobuline (31). En effet, l'HCII n'est pas sensible à l'effet des HBPM, son effet antithrombine n'est pas potentialisé par les HBPM.(10)

## I. INTERACTION DE L'HEPARINE AVEC LES FACTEURS DE LA COAGULATION.

L'héparine exerce donc son action anticoagulante par l'intermédiaire de l'ATIII. L'ATIII est un régulateur naturel de

la coagulation qui neutralise progressivement les sérines-protéases de la coagulation, sauf le FVII, rompant en particulier les boucles d'amplification de la coagulation par l'inhibition du Xa et du IIa. C'est ainsi que la demi-vie de la thrombine en présence d'ATIII est de quarante secondes, alors qu'en présence d'ATIII et d'héparine, elle est de deux secondes.

L'ATIII et la sérine-protéase forment un complexe équimoléculaire très stable au sein duquel l'enzyme est inactivée, ce complexe est rapidement épuré par le foie puis dégradé. En présence d'héparine, la réaction ATIII-sérine-protéase est considérablement accélérée: (23) la fixation de l'héparine sur les résidus lysine de l'ATIII entraînerait un remaniement de la conformation spatiale de l'ATIII; son site réactif se trouverait ainsi démasqué et plus accessible au site sérine des protéases.

Deux facteurs de la coagulation sont plus sensibles à cette inhibition: le IIa et le Xa:

-concernant la thrombine: l'héparine se lie à la fois à l'ATIII par un site pentasaccharidique, et à la thrombine activée favorisant l'interaction des deux protéines: l'héparine se détache ensuite du complexe et va être réutilisée pour la formation d'autres complexes.

-l'inactivation du facteur Xa se fait différemment: l'héparine se lie uniquement à l'ATIII. (23)

Ceci explique la différence d'action entre l'HNF et les HBPM:

-dans le cas de la thrombine la formation du complexe héparine-ATIII-facteur de la coagulation se fait en même temps donc son inhibition nécessite des longues chaînes d'héparine: HNF

-dans le cas du facteur Xa, la formation du complexe héparine-ATIII précède sa neutralisation, donc son inhibition peut se faire avec des HBPM.(6)

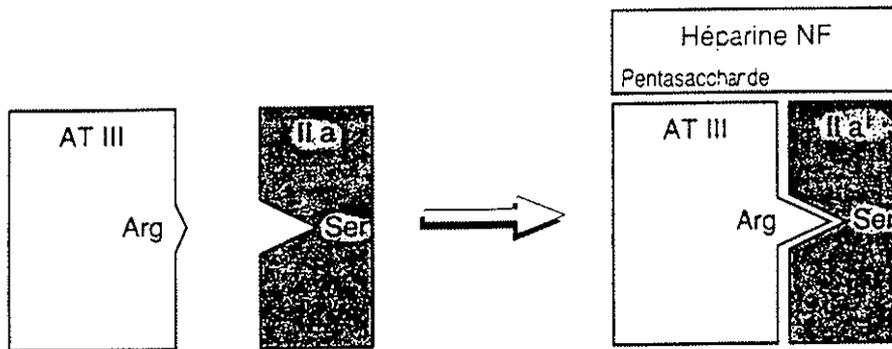


Figure 1. *Activité antithrombine des héparines non fractionnées.* AT III: antithrombine III; Ila: thrombine; Ila<sup>i</sup>: thrombine neutralisée; héparine NF: héparine non fractionnée; Arg: résidu arginine; ser: résidu sérine. Le complexe AT III-Ila-héparine se forme en même temps.

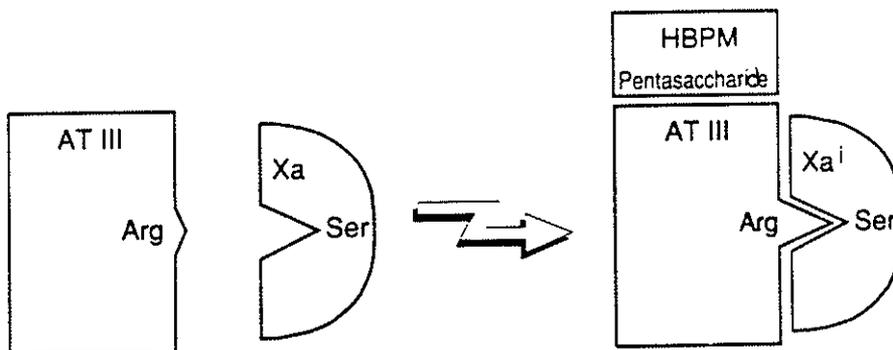


Figure 2. *Activité antifacteur X activé des héparines de bas poids moléculaire.* Xa: facteur X activé; Xa<sup>i</sup> (activé): facteur Xa neutralisé; HBPM: héparine de bas poids moléculaire. Le complexe AT III-HBPM précède la neutralisation du Xa.

## II. DIFFERENCE D'ACTIVITE ENTRE L'HNF ET LES HBPM.

Les HBPM inhibent donc moins le FIIa que le FXa. Comme elles contiennent néanmoins une certaine quantité de molécules ayant une longueur supérieure à dix-huit unités osidiques, elles peuvent, en cas de forte posologie ou d'accumulation, induire une certaine activité anti-IIa.(6)

C'est ainsi que les molécules de haute affinité ayant une longueur supérieure à dix-huit unités osidiques et un poids moléculaire supérieur à 5000 D possèdent une forte activité anti-IIa et anti-Xa; et que celles ayant une longueur inférieure à dix-huit unités osidiques et un poids moléculaire inférieur à 5000 D possèdent une forte activité anti-Xa et une faible activité anti-IIa.(6)

Ces activités relatives, anti-IIa et anti-Xa, sont habituellement quantifiées à l'aide du rapport activité anti-Xa/activité anti-IIa. Ainsi pour l'HNF, ce rapport est de 1, tandis que pour les HBPM, la réduction du poids moléculaire entraîne une perte légère de l'activité anti-Xa et une diminution beaucoup plus marquée de l'activité anti-IIa: leur rapport activité anti-Xa/activité anti-IIa varie donc de 2 à 5.(31)

La valeur des activités anti-IIa et anti-Xa a été établie pour chaque HBPM, ainsi que le ratio activité anti-Xa/activité anti-IIa

(4)

	anti-Xa (UI/mg)	anti-IIa	ratio
HNF	193	193	1
Fragmine	130	56	2,2
Fraxiparine	95	27	3,5
Logiparine	79	53	1,5
Clivarine			5,0

### III.A QUELLE ACTIVITE EST LIEE L'ACTION ANTITHROMBOTIQUE ?

#### III.1.Hypothèses anciennes.

Lors de l'apparition des HBPM, leur modification d'activité par rapport à celle de l'HNF a paru intéressante, à la suite d'hypothèses selon lesquelles l'activité anti-Xa était responsable de l'effet antithrombotique (32), ( donc de l'efficacité des héparines dans la prophylaxie des thromboses); et l'activité anti-IIa était nécessaire pour le traitement d'accidents déjà constitués mais induisait un risque hémorragique.(29)

De plus, les HBPM ayant une activité antithrombotique comparable à celle de l'HNF, il avait été établi empiriquement une relation entre l'activité anti-Xa et l'activité antithrombotique.

Maintenant, après avoir insisté sur l'importance de l'effet anti-Xa dans l'expression de l'activité antithrombotique des héparines (années 70-80), on a attribué plus récemment l'essentiel des vertus thérapeutiques des héparines HNF et HBPM à leur effet anti-IIa.(24)

En tout cas, il serait simpliste et totalement faux d'approprier l'action des héparines à l'une ou l'autre de ces activités; il est donc nécessaire de faire le point sur les constatations actuelles:

#### III.2.Action antithrombotique de l'activité anti-Xa.

Des résultats obtenus in vitro et chez l'animal à partir d'études sur du pentasaccharide synthétique d'activité anti-Xa exclusive, montrent qu'il est possible d'obtenir un effet

antithrombotique au moyen de la seule activité anti-Xa (31). Mais deux restrictions importantes doivent s'ajouter:

- d'une part, la quantité nécessaire à cette activité exprimée en unités anti-Xa est très largement supérieure à celle nécessitée par l'HNF et les HBPM (31). De même que la comparaison d'essais cliniques réalisés avec des héparines de poids moléculaires différents suggère que plus le poids moléculaire moyen de l'héparine est bas ( et donc plus le rapport activité anti-Xa/activité anti-IIa est élevé), plus il est nécessaire d'engendrer une activité anti-Xa circulante élevée pour obtenir le même effet antithrombotique. Ainsi l'estimation de l'activité anti-Xa circulante témoigne du niveau d'héparinémie, mais ne présume pas forcément de l'activité antithrombotique qui dépend également du ratio activité anti-Xa/activité anti-IIa du produit injecté.(6)

De ce même point de vue, l'étude de fragments à activité antiXa égale mais à activité anti-IIa croissante, a révélé une augmentation de l'activité antithrombotique parallèlement à celle de l'activité anti-IIa.(30)

- d'autre part, in vitro et in vivo, le PS à dose antithrombotique ne possède aucune activité antithrombotique directe mais il est néanmoins capable d'inhiber la génération de thrombine. Cela suggère que l'inhibition de la thrombine et/ou de la génération de la thrombine est un élément important pour l'expression de l'activité antithrombotique des héparines.(31)

C'est pourquoi, le rapport des activités anti-Xa/anti-IIa in vitro considéré comme un critère essentiel pour distinguer HBPM et HNF est actuellement remis en question. Il tend à être remplacé par l'inhibition de la génération de la thrombine en plasma riche en

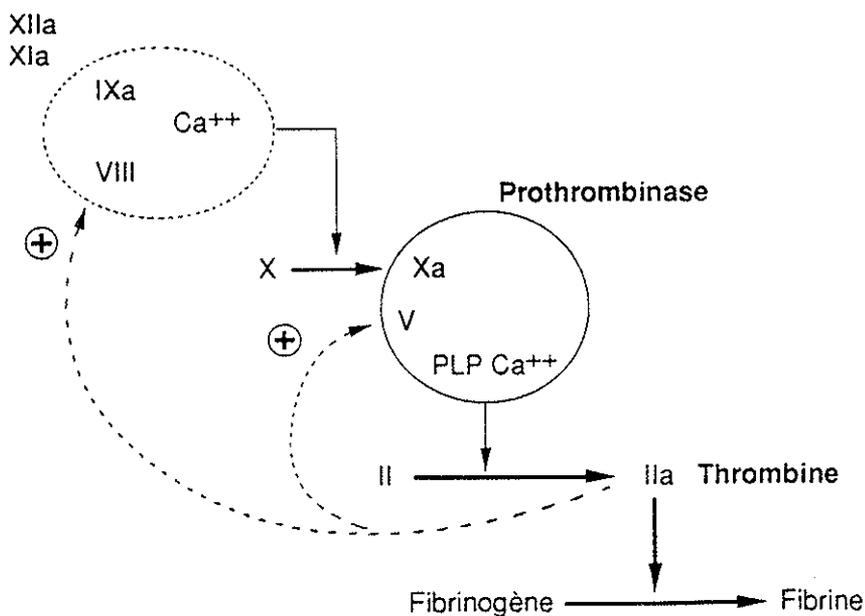
plaquettes (PRP) et l'inhibition de la consommation de la prothrombine, pour lesquelles la différence de comportement des HNF et HBPM permettrait une distinction plus appropriée et plus proche de leur activité antithrombotique.(30)

### III.3. Importance et prépondérance de l'activité anti-IIa

Pendant longtemps, l'action de l'héparine a été considérée comme liée essentiellement à une action antithrombinique capable d'empêcher la transformation du fibrinogène en fibrine. Mais des travaux plus récents ont insisté sur le fait que la coagulation comporte en réalité une intervention beaucoup plus précoce de la thrombine.(31)

En effet le point le plus critique de la cascade de la coagulation (pour la génération efficace de la thrombine) est la boucle de rétroactivation de la thrombine, c'est à dire l'activation des facteurs V et VIII. Ces réactions sont essentielles à l'amplification de la coagulation.

Rétroactivation des facteurs V et VIII par la thrombine.(24)

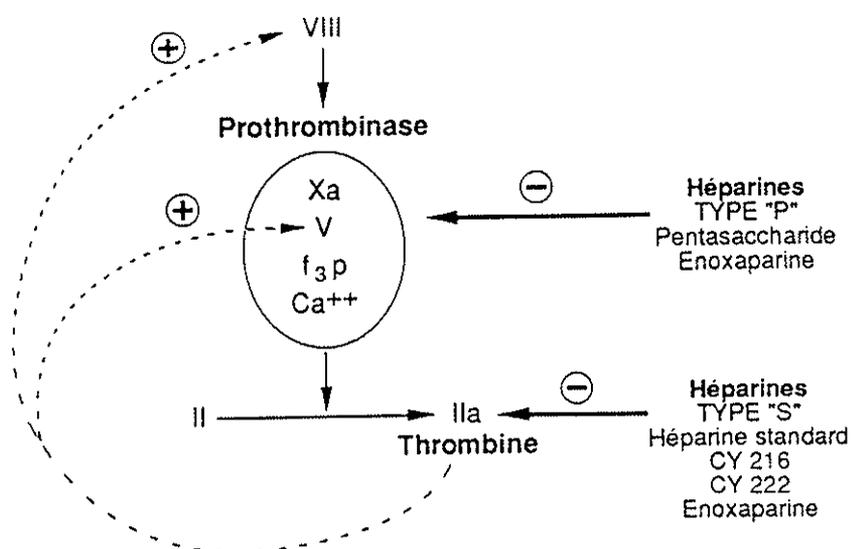


Ce sont les traces de thrombine initialement formées qui par rétroactivation entraînent une génération accrue de thrombine endogène.

L'inhibition de cette boucle de rétroactivation, c'est-à-dire l'inhibition de la thrombine elle-même, est le moyen le plus efficace dans la prévention de la génération ultérieure de thrombine.(4)

Il a été démontré que des faibles concentrations d'héparine, utilisées dans le traitement prophylactique, sont capables en présence d'ATIII de s'opposer aux premières traces de thrombine(31). L'HNF et les HBPM agiraient donc essentiellement en inhibant la thrombine et donc ce rétrocontrôle; les fragments de plus faible poids moléculaire comme le pentasaccharide n'agissent pas par ce mécanisme, mais inhibent directement l'activité prothrombinase.

Certaines HBPM possèdent les deux types d'action.(24)



Au total, il paraît légitime d'admettre que l'action prophylactique des héparines s'exerce essentiellement par l'intermédiaire d'une inhibition de la génération de la thrombine et/ou de la thrombine elle-même.

#### III.4. Rôle de l'activité anti-Xa.

L'hypothèse que l'activité anti-Xa des HBPM est inopportune serait probablement une sursimplification.

Des fragments en-dessous de dix-huit unités saccharidiques sont des inhibiteurs modérément efficaces de la génération de thrombine malgré leur total manque d'activité anti-IIa. De tels fragments peuvent avoir une importante contribution lorsque des fragments de haut poids moléculaire ont été neutralisés par le PF4.(4)

La plupart des études, employant un modèle animal, a montré une bonne corrélation des activités in vivo des HBPM couramment disponibles avec leur activité anti-Xa, et une faible corrélation avec leur activité anti-IIa.(4)

De même des expériences ont montré que malgré une augmentation progressive de l'activité antithrombotique avec la taille de la molécule d'une série de fragments de huit à vingt saccharides, il n'y eut pas de soudaine augmentation à dixhuit saccharides, comme cela aurait été attendu si l'inhibition de la thrombine jouait le rôle principal. Il apparait donc que (au moins dans ce type de modèle animal) l'activité anti-Xa a une importante contribution à l'activité antithrombotique des HBPM.

Cependant, il peut être noté que, comme l'activité antithrombotique augmente en même temps que le poids moléculaire, les molécules les plus efficaces sont celles qui possèdent une activité anti-IIa aussi forte que l'activité anti-Xa.

De là, il n'est pas possible d'imputer les actions antithrombotiques des HBPM à une seule fraction ou activité.(4)

L'activité anti-Xa a toutefois un rôle indiscutable dans l'inhibition de la génération de la prothrombinase et de la prothrombinase elle-même. Mais les travaux s'accordent à reconnaître qu'elle a une activité bien plus grande sur le FXa libre que sur la prothrombinase où le FXa inclus dans le complexe est relativement protégé contre son inhibition. Toutefois, le FXa engagé dans le complexe prothrombinase pourrait être plus accessible aux HBPM qu'à l'HNF.(31)

Cependant, l'importance relative des deux facteurs (IIa et Xa) reste discutée. Il semble admis que le rôle de la thrombine est prépondérant mais que celui du Xa ne serait pas à négliger d'autant plus qu'il serait le "starter" des processus de coagulation, et pourrait jouer le même rôle que la thrombine dans l'activation des FV et FVIII.(31)

#### IV. INTERACTION HEPARINE-PLAQUETTES.

In vitro, l'HNF a un fort pouvoir proagrégant plaquettaire et les HBPM semblent avoir peu d'effets sur les plaquettes (24). Ces différences entre les HNF et les HBPM apparaissent importantes quand on dose la génération de thrombine dans un PRP. En effet la concentration d'HNF capable d'inhiber totalement la formation de thrombine dans un PPP(plasma pauvre en plaquettes) est neutralisée par les produits issus de l'activation des plaquettes (notamment le PF4). Les HBPM semblent moins aptes à cette neutralisation.(20) Le PF4 qui se lie à l'HNF, en diminuant ainsi son activité anticoagulante est nettement moins affin vis à vis des HBPM: cette propriété permettrait aux HBPM de rester actives au voisinage d'un thrombus artériel.(24)

## CHAPITRE IV

## EMPLOI DES HEPARINES

\*\*\*\*\*

## I. Dosage, conditionnement des différentes héparines.

## I.1. Dosage.

I.1.1. HBPM

I.1.2. HNF

## I.2. Conditionnement.

I.2.1. Les HBPM

I.2.2. Les HNF

## II. Indications.

## II.1. Revendication des AMM.

II.1.1. HNF

II.1.2. HBPM

## II.2. Discussion.

- traitement préventif
- traitement curatif
- limite des HBPM

## III. Schémas thérapeutiques (posologies.)

## III.1. Traitements préventifs

III.1.1. HNF

III.1.2. HBPM

## III.2. Traitements curatifs

III.2.1. HNF

III.2.2. HBPM

IV.Surveillance des traitements.

IV.1.Surveillance des plaquettes

IV.2.Surveillance de l'hémostase

IV.2.1.tests de coagulation préconisés

a.description

b.utilisation des tests

IV.2.2.mode de surveillance

a.traitement préventif

b.traitement curatif

V.Récapitulatif des avantages des HBPM par rapport à l'HNF.

\*\*\*\*\*

## I. DOSAGE, CONDITIONNEMENT DES DIFFERENTES HEPARINES.

### I.1. Dosage.

#### I.1.1. HBPM

Nous avons vu au chapitre "Structure" que les différentes HBPM se comportaient de manière équivalente. Par contre, préparées par des procédés différents, les produits obtenus ne sont pas strictement identiques. C'est pourquoi les recommandations de posologie pour une indication donnée doivent être celles qui sont préconisées par le fabricant. De plus, vu que les HBPM se sont développées en l'absence de standardisation contre une préparation étalon commune, les systèmes d'unités utilisés sont propres à chaque préparation:

HBPM	Expression de l'activité anti-Xa
Fraxiparine	unité antifacteur Xa IC (Institut Choay)
Lovenox	mg
Fragmine	unité antifacteur Xa amidolytique
Clivarine	unité internationale

Depuis qu'un étalon international d'HBPM est disponible, il est possible de convertir les unités propres à chaque fabricant en unités internationales (UI/anti-Xa). Le titre de cet étalon est de 168 UI anti-Xa/mg et 68 UI anti-IIa/mg (rapport anti-Xa/anti-IIa voisin de 2,4).(31)

Ainsi les équivalences en UI sont:

1 unité anti-Xa IC de Fraxiparine = 0,41 UI anti-Xa

1 mg de lovenox = 100 UI anti-Xa

1 unité anti-Xa amidolytique de Fragmine = 1 UI anti-Xa  
(1)

L'équivalence peut aussi se traduire de la façon suivante:

Fraxiparine 1 mg = 97 UI anti-Xa

Lovenox 1 mg = 100 UI

Fragmine 1 mg = 148 UI

(31)

#### I.1.2.HNF.

L'HNF a une activité spécifique qui varie entre 150 et 200 UI par mg, de même sa concentration (nombre d'UI/ml) varie selon les préparations. Il faut donc prescrire l'HNF en UI.(1)

### I.2. Conditionnement.

On dispose: d'ampoules

d'ampoules seringues = seringues préremplies

d'ampoules seringues graduées.

de flacons.

Pour une même héparine, il peut y avoir différents volumes et/ou dosages, ce qui permet d'utiliser la forme la mieux adaptée à la prescription médicale.

#### I.1.2.HBPM.

##### \* Fraxiparine<sup>R</sup>

Un dosage unique: 25.000 U anti-Xa IC/ml

= 10.250 UI anti-Xa/ml

. seringues préremplies unidoses:

0,2 ml = 5.000 U anti-Xa IC= 2.050 UI anti-Xa

0,3 ml = 7.500 U anti-Xa IC= 3.075 UI anti-Xa

0,4 ml = 10.000 U anti-Xa IC= 4.100 UI anti-Xa

. seringues graduées:

0,6 ml = 15.000 U anti-Xa IC = 6.150 UI anti-Xa

0,8 ml = 20.000 U anti-Xa IC = 8.200 UI anti-Xa

1 ml = 25.000 U anti-Xa IC = 10.250 UI anti-Xa

(volumes 0,3;0,6 et 0,8 ml disponibles en officines)

Les nombreux dosages de Fraxiparine constituent une commodité d'emploi, et une adaptation posologique facile en fonction du poids du patient. Les seringues graduées permettent d'injecter des doses intermédiaires.

\* Lovenox<sup>R</sup>. un dosage unique: 100 mg/ml

seringues préremplies:

20 mg / 0,2 ml; 40 mg / 0,4 ml; 60 mg / 0,6 ml

80 mg / 0,8 ml; 100 mg / 1ml

\* Fragmine<sup>R</sup>. plusieurs dosages:

. seringues préremplies de 0,2 ml = 2.500 UI anti-Xa

. seringues préremplies de 0,2 ml = 5.000 UI anti-Xa

. ampoules de 1 ml = 10.000 UI anti-Xa.

\* Clivarine<sup>R</sup>. un dosage unique

. seringues préremplies de 0,25 ml = 1.750 UI anti-Xa

. seringues préremplies de 0,60 ml = 4.200 UI anti-Xa

### I.2.2.HNF

\* Héparines sodiques:

Panpharma: ampoules de 1 ml = 2.500 UI

flacons de 5 ml = 25.000 UI

Léo;Choay: ampoules de 1 ml = 5.000 UI

flacons de 5 ml = 25.000 UI

\* Héparines calciques ( Panpharma;Léo;Calciparine )

Un dosage de 25.000 UI/ml

seringues préremplies de 0,2 ml = 5.000 UI

seringues préremplies de 0,3 ml = 7.500 UI

ampoules de 0,5 ml = 12.500 UI

ampoules de 0,8 ml = 20.000 UI

ampoules de 1 ml = 25.000 UI

(38)

## II. INDICATIONS.

### II.1. Revendications des AMM.

#### II.1.1. HNF.

\* Globalement, nous pouvons commencer à poser quatre types d'indication, qui sont en principe communs à toutes les HNF, calciques ou sodiques:

1/ Traitement des thromboses veineuses déclarées, des embolies pulmonaires, des infarctus du myocarde (IDM), des phases aiguës des thromboses artérielles et des autres manifestations thromboemboliques.

2/ Prévention des accidents thromboemboliques veineux et artériels.

3/ Etat de défibrination formellement attribué à une coagulopathie de consommation.

4/ Prévention de la thrombose dans les circuits extracorporels.

\* En détaillant les indications portées dans les AMM pour chacune des spécialités nous pouvons préciser les spécificités de chacune:

- Toutes les héparines sodiques ainsi que l'héparine calcique Léo ont en commun les indications suivantes:

.prévention des accidents thromboemboliques veineux et artériels.

.traitement des thromboses veineuses déclarées (phlébites...) de l'embolie pulmonaire, des thromboses artérielles (IDM) et de toutes les autres manifestations thromboemboliques.

- L'héparine Choay, l'héparine sodique Léo et l'héparine calcique Léo ont en plus comme indications (sous l'appellation cas particuliers):

.états de défibrination formellement attribués à une CIVD, sous stricte surveillance médicale.

.circulation extracorporelle, épuration extra-rénale, héparinisation des circuits de perfusion.

- Pour les deux autres héparines calciques (Calciparine et héparine calcique Panpharma), les indications sont formulées un peu différemment:

-Calciparine:

"prévention et traitement de la maladie thromboembolique et des états thrombogènes".

-Héparine calcique Panpharma.

"traitement d'attaque et d'entretien de la maladie thromboembolique et des états thrombogènes".(Il n'est pas fait état de la prophylaxie).

- L'AMM des flacons de 1 ml seulement de l'héparine Choay a été étendue:

- proposé comme :traitement adjuvant des manifestations de l'athérocclérose, angine de poitrine, séquelles d'IDM, artérite chronique des membres inférieurs.

- traitement adjuvant de certaines manifestations rebelles ou chroniques: troubles trophiques post-phlébitiques, ulcères de jambes.

(38)

### II.1.2.HBPM.

Les indications des HBPM sont réduites par rapport à celles des HNF.Cependant leur emploi a changé depuis leur arrivée sur le marché et leurs indications pourraient encore s'étendre.

Voici ce qu'elles sont actuellement:

\* Pour les trois plus anciennes:Fragmine, Fraxiparine, Lovenox.

-traitement prophylactique de la maladie thromboembolique veineuse en chirurgie orthopédique et en chirurgie générale.

- traitement des thromboses veineuses profondes (TVP) constituées.

-prévention de la coagulation du circuit de circulation extracorporelle au cours de l'hémodialyse.

\* Pour Clivarine.

-traitement prophylactique de la maladie thromboembolique veineuse en chirurgie générale et orthopédique.

(38)

Actuellement, les HBPM tendent à remplacer les HNF (sous-cutanées) mais cette substitution n'est légitime que dans le cadre des indications mentionnées à l'AMM. En effet, c'est pour ces seules indications (sus-citées) que l'efficacité des HBPM est reconnue.

## II.2. Discussion.

Pendant de nombreuses années, l'héparine a surtout été le médicament du traitement curatif de l'accident thromboembolique veineux. Puis la forme sous-cutanée a été à l'origine du développement du concept de prévention de la thrombose veineuse et de sa complication: l'embolie pulmonaire.

Le traitement préventif consiste alors à administrer de l'héparine afin d'éviter la survenue d'un accident thromboembolique lors d'une situation à risques, en général les périodes post-opératoires.

### - traitement préventif:

Depuis longtemps, on sait que les HBPM sont aussi efficaces que l'HNF dans la prévention des thromboses veineuses profondes (TVP) post-opératoires en chirurgie générale et orthopédique (32). Toutes les études s'accordent à prouver cette efficacité. Bien que l'efficacité soit égale mais pas forcément meilleure par rapport à celle de l'HNF, l'usage des HBPM s'est maintenant généralisé en prophylaxie des TVP aux dépens de l'HNF grâce à tous les avantages pratiques que peuvent avoir les HBPM sur l'HNF (voir lesquels en fin de partie.)

Si en 1992, la supériorité des HBPM en chirurgie orthopédique ne faisait pas l'unanimité (16), des études de 1995 concluent que les HBPM seraient plus efficaces que l'HNF en chirurgie orthopédique (prothèse totale de la hanche exceptée) (4).

En tout cas, maintenant, suite à la multitude des essais cliniques, les HBPM ont complètement supplanté l'HNF pour toutes

les indications concernant la prophylaxie de la maladie thromboembolique veineuse.

- traitement curatif:

Les études sur les HBPM étaient réservées à la prophylaxie depuis que l'on pensait que le traitement des thromboses constituées demandait un inhibiteur de la thrombine. Mais certaines expériences ayant utilisé des HBPM en traitement ont donné des résultats encourageants. L'intérêt de recourir aux HBPM pour traiter des TVP est alors apparu, et dans cette indication, les AMM ont été progressivement délivrées. En 1989, de nombreuses publications émettent des réserves quant à l'efficacité formelle des HBPM en raison du nombre jugé trop limité d'études cliniques randomisées réalisées jusqu'alors, même si les résultats obtenus étaient positifs (32). Les études semblent s'être alors multipliées et vers 1992, la synthèse des résultats des principaux essais cliniques publiés dans le traitement de la TVP montrent que l'efficacité des HBPM (à doses fixes par rapport au poids) sur le plan clinique est égale à celle de l'HNF (à doses adaptées en intra-veineux continu) (27). En effet si l'on conserve les objectifs de l'HNF dans cette pathologie : arrêt de l'extension de la thrombose et prévention des embolies pulmonaires, on peut comparer les HBPM à l'HNF. Il apparaît que l'efficacité est la même, tant pour l'évolution de la thrombose (il n'y a ni plus ni moins d'extension clinique) que pour la prévention de l'embolie pulmonaire (le nombre d'accidents de ce type étant identique).  
(16)(27)

En conclusion, bien que cette utilisation ait été plus tardive, les HBPM tendent à remplacer les HNF dans le traitement de la TVP constituée.

En ce qui concerne le traitement de l'embolie pulmonaire, les avis sont un peu plus contradictoires, et il n'y a apparemment pas encore de généralisation. Bien que de nombreux essais aient abouti à des résultats positifs, cette indication n'est pas encore donnée pour les HBPM par les AMM.

- limites des HBPM:

Elles sont essentiellement constituées par les indications du versant artériel et plus précisément les affections coronariennes. L'HNF seule conserve ces indications dans certains domaines:

- à la phase aiguë de l'IDM non thrombolysé, l'HNF réduit de façon significative la fréquence des thromboses pariétales gauches.

- chez les patients thrombolysés, l'HNF améliore le taux de reperfusion et diminue la mortalité précoce.

- à distance de l'infarctus aigu, l'HNF réduit le taux de récurrences à moyen terme.

- enfin les résultats rapportés dans l'angor instable sont extrêmement encourageants.

Les HBPM n'ont pratiquement pas été testées dans ces indications, comme d'ailleurs dans les indications voisines où il est courant d'administrer de l'HNF: chirurgie artérielle périphérique, angioplastie et pontage coronarien (16). D'autre part, vue la différence de physiopathologie entre la thrombose artérielle et la thrombose veineuse, ainsi que le manque de modèles expérimentaux

fiables, les doses d'héparine utilisées pour le traitement des TVP ne peuvent être extrapolées aux thromboses artérielles.(24)

Par contre les HBPM ont certaines propriétés différentes de celles de l'HNF, notamment vis à vis des plaquettes, qui pourraient être intéressantes en pathologie artérielle thrombotique.

Enfin dans les CIVD (malgré un essai préliminaire suggérant l'efficacité des HBPM) et les CEC, l'HNF seule continue à être utilisée.(16)

### III. SCHEMAS THERAPEUTIQUES (posologies).

#### III.1. Traitements préventifs.

*Notions de "risques".*

On distingue deux types de risques: le risque faible et le risque élevé, de voir apparaître des complications thrombotiques.

Le risque élevé: il est lié à deux types de facteurs:

- facteurs de risques propres à la chirurgie
  - . chirurgie orthopédique, de la hanche, du genou.
  - . chirurgie carcinologique.
  - . chirurgie avec gros délabrement tissulaire
- facteurs de risques propres au malade
  - . surcharge pondérale
  - . antécédent de thrombose
  - . déficit en inhibiteurs de la coagulation.
  - . âge avancé.

Le risque faible: il correspond à toute autre situation médicale ou chirurgicale.

### III.1.1.HNF

#### a.Posologies.

Le traitement préventif par l'HNF est encore parfois utilisé bien qu'il ait tendance à être progressivement remplacé par les HBPM. On utilise alors le plus souvent une héparine calcique par voie sous-cutanée.

##### \*risque faible

en général, on administre deux ou trois injections sous-cutanées par jour de 5.000 UI.

Le protocole Kakkar préconise 5 000 UI deux heures avant l'intervention chirurgicale puis 5 000 UI trois fois par jour pendant sept jours.

##### \*risque élevé

la posologie est établie en fonction du poids du malade: elle est de 150 UI/kg en deux ou trois injections par jour, et elle est à adapter ensuite quotidiennement en fonction du TCA.

#### b.Durée

La durée des traitements préventifs par HNF est le plus souvent de sept à dix jours, avec un relais précoce par les anticoagulants oraux si nécessaire.

### III.1.2 .HBPM

Dans le risque élevé et le risque faible, le rythme d'administration est toujours de une injection sous-cutanée par 24 heures.

#### a. Posologies

##### \*Risque faible

Les doses sont fixes, non adaptées au poids du patient pour toutes les HBPM. Elles sont de:

Fragmine: 2500 UI anti-Xa

Lovenox 20mg:2000 UI anti-Xa (= 0,2ml)

Fraxiparine: 3075 UI anti-Xa(= 7500 U anti-Xa IC) = 0,3ml

Clivarine: 1750 UI

La première injection sous-cutanée est administrée deux heures avant l'acte opératoire sous anesthésie générale puis chaque jour. Cette injection préopératoire est discutée pour les techniques de rachianesthésie et d'anesthésie péridurale en raison du risque théorique accru d'hématome intrarachidien.

##### \*Risque élevé

- Pour Fraxiparine, la dose devient adaptée au poids du patient et augmente à partir du quatrième jour.

- les doses sont fixes mais doublées (par rapport au risque faible) pour Lovenox, Clivarine et Fragmine à partir de J1 (c'est à dire troisième injection).

La première injection se fait douze heures avant l'intervention pour Lovenox, Fraxiparine et Clivarine, ceci afin de limiter les accidents hémorragiques périopératoires rapportés en cas d'administration de 5000 UI deux heures avant l'opération.

Tableau récapitulatif:

	Avant l'intervention	Le soir de l'intervention	Post opératoire =J1 à sortie/24h
Fraxiparine	41UI anti-Xa/kg =100anti-XaIC/kg	41UI anti-Xa/kg =100anti-XaIC/kg	J1 à J3 = 41UI/kg >J4 = 61,5 UI/kg = 1500U anti-XaIC/kg
Fragmine	2500 UI	2500 UI	5000 UI
Lovenox	40mg=4000UIantiXa (=0,4 ml)	40mg	40mg
Clivarine	4200 UI	4200 UI	4200 UI

\*Cas particuliers

Lorsque le risque thromboembolique lié au type de chirurgie (notamment en cancérologie) et/ou au patient (notamment antécédents de maladie thromboembolique) parait majoré, on peut envisager le recours à une posologie prophylactique plus élevée.

**b. Durée**

En chirurgie générale, la durée de traitement doit être au moins de sept jours, elle est en pratique de sept à dix jours. En chirurgie orthopédique, la durée de traitement doit être au moins de dix jours. Mais dans tous les cas, elle doit coïncider avec celle du risque thrombotique, donc le traitement doit être maintenu jusqu'à déambulation active du malade.

Dans le cas où un traitement anticoagulant de longue durée est nécessaire, l'héparine est habituellement relayée par les anticoagulants oraux (pour prévenir l'apparition de TIH dont l'incidence augmente avec la durée du traitement).

### III.2.Traitements curatifs.

#### III.2.1.HNF.

##### **a.Posologies.**

La posologie est toujours à adapter au poids du malade. La dose moyenne utilisée en première intention est de 500 à 600 UI/kg/24h quelle que soit la voie d'administration (IV ou SC).

Cette dose sera ultérieurement adaptée en fonction des résultats de la surveillance biologique. En pratique, cette dose peut varier de 400 à 800 UI/kg/24h ( = 15 à 25 UI/kg/h en IVC).(1)

##### *Mode d'administration.*

##### - En intraveineuse continue (IVC)

La perfusion à la seringue électrique reste la méthode de référence. Il ne faut pas oublier de faire précéder la perfusion d'un bolus initial de 5 à 100 UI/kg. (En son absence, quatre à six heures seraient nécessaires avant d'atteindre une hypocoagulabilité stable).

##### - En intraveineuse discontinue (IVD).

Si l'IVC est impossible en raison de l'absence de seringue électrique, l'HNF peut à défaut être administrée par IVD. Dans ce cas, douze injections par 24 h sont nécessaires (une toute les deux heures). A ces doses la demi-vie de l'héparine après injection est en moyenne de une heure. Les injections IV toutes les quatre heures sont déconseillées car elles exposent le patient à un risque hémorragique important en relation avec un surdosage relatif pendant les deux premières heures après l'injection.

- En sous-cutanée (SC)

Ce mode succède en général au traitement par voie IV. Le nombre des injections est de deux à trois par 24 heures. Il n'est pas conseillé de dépasser la dose de 15000 UI par injection. La dose totale requise par 24 h est égale ou légèrement supérieure à celle qui serait injectée en perfusion continue.

Certains préconisent de faire précéder la première injection SC par une injection IV bolus de 500 UI/kg (pour que l'hypocoagulabilité souhaitable soit atteinte dans les meilleurs délais). D'autres préfèrent utiliser une perfusion pendant les 48 premières heures, période pendant laquelle la dose quotidienne nécessaire sera plus rapidement établie.(1)

**b. Durée.**

La durée optimale d'un traitement curatif de maladie thromboembolique veineuse est de sept à dix jours. Etant donné que l'équilibre par les AVK demande quatre à six jours, il est nécessaire de les introduire entre le troisième et le cinquième jour après le début de l'héparinothérapie, avec une période de recouvrement d'au moins quatre jours.(1)

**III.2.2. HBPM.**

**a. Posologies.**

- Le rythme d'injection est doublé (par rapport au traitement préventif), soit deux injections par jour (= une toutes les douze heures).

- Pour toutes les HBPM, la dose devient adaptée au poids du patient, et fixe pendant la durée du traitement, du moins en

principe mais sous réserve que le contrôle de l'activité anti-Xa convienne, s'il est fait (voir plus loin).

Fraxiparine = 225 U anti-Xa IC/kg ( = 92 UI anti-Xa /kg  
=0,1 ml/10 kg)

Fragmine = 100 à 120 UI anti-Xa/kg.

Lovenox = 1 mg/kg = 100 UI/kg.

Remarque: Pour fragmine, un contrôle de l'activité anti-Xa est imposé pour adapter la posologie.

*NB:* Les essais thérapeutiques ont abouti à leur insu à des recommandations de posologie extrêmement cohérentes, ce qui est rassurant pour une même classe médicamenteuse.(6)

#### **b.Durée**

La durée de traitement ne doit pas dépasser dix jours, délai d'équilibre par les AVK compris. Le traitement anticoagulant oral est donc, sauf contre-indication initié le plus tôt possible.

#### Commentaires

A propos des durées de traitement, non seulement il a été montré clairement que les traitements de dix jours dans les thromboses veineuses profondes étaient suffisants, mais il a été aussi montré qu'un traitement héparinique de cinq jours (avec administration dès le premier jour d'AVK) était aussi efficace qu'un traitement de dix jours (avec administration des AVK au cinquième jour). Ceci étant le résultat d'un essai thérapeutique conduit en double aveugle.(37)

Les schémas thérapeutiques, tels que nous les avons décrits peuvent encore évoluer dans l'avenir vu les essais actuellement en cours et les nouvelles considérations qu'ils apportent.

Par exemple, des travaux ont démontré qu'il était possible de traiter les thromboses veineuses avec une seule injection quotidienne de Logiparine, et les protocoles actuellement en cours avec d'autre HBPM semblent le confirmer. Par contre dans ce cas-là, les choix posologiques ainsi que les critères de surveillance biologique seraient à remettre en place. 175 UI/kg/jour serait suffisant.(15)

En ce qui concerne les doses d'HBPM dans les traitements curatifs, il ne semble pas qu'il y ait une différence en terme d'efficacité et de tolérance, si l'on adapte initialement une fois pour toute la posologie par rapport au poids, ou si, au contraire on adapte régulièrement les doses selon le dosage de l'activité anti-Xa.

Cependant, il est néanmoins difficile à l'heure actuelle de proposer sans nuance un traitement révolutionnaire et éventuellement ambulatoire ne comportant que deux injections sous cutanée par jour (ou peut-être même une seule) d'une HBPM à dose fixe fondée uniquement sur le poids du malade et non surveillée sur le plan biologique car:

. il est difficile pour des médecins de prescrire des traitements qui sont potentiellement dangereux avec une zone thérapeutique qui paraît pratiquement aussi étroite qu'avec l'HNF, sans prendre la moindre garantie de surveillance biologique.

. ensuite sur le plan légal, tout au moins en France, il y a nécessité dans les traitements curatifs de doser l'activité anti-Xa, témoin de l'héparine circulante.(27)

#### IV. SURVEILLANCE DES TRAITEMENTS.

##### IV.1. Surveillance des plaquettes.

La surveillance de la numération plaquettaire s'impose toujours quel que soit le type d'héparine utilisé et la raison du traitement.

Ce point sera mieux développé en seconde partie, mais nous pouvons donner ici le schéma habituel de surveillance des numérations plaquettaires:

- . une avant instauration du traitement héparinique.
- . puis deux fois par semaine pendant le premier mois (jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour préconisé par d'autres comme Lovenox).
- . pour les traitements plus longs, la surveillance peut-être espacée à une par semaine jusqu'à arrêt du traitement.

##### IV.2. Surveillance de l'hémostase.

La surveillance de l'hémostase se fait sur un plasma citraté (3,8% ou 0,13 M = 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang).

Le prélèvement est centrifugé à 2000 g pendant quinze minutes et les tests sont effectués sur le plasma déplaqueté. La centrifugation doit être pratiquée de préférence à moins d'une heure après le prélèvement pour éviter la neutralisation de l'héparine par les plaquettes (PF4).

#### IV.2.1. Tests de coagulation préconisés.

##### a. description.

###### - Temps de céphaline activé (TCA)

Il est réalisé par addition au plasma:

. d'un activateur: kaolin, ou acide ellagique, ou silice micronisée.

. de céphaline, qui a pour rôle de remplacer les phospholipides des plaquettes.

. de  $Ca^{++}$

Le temps de coagulation après addition du calcium est mesuré, et comparé à un plasma témoin. La valeur normale de ce temps est de 25 à 35 secondes. On exprime le résultat par le rapport temps du malade / temps du témoin qui doit être entre 0,8 et 1,20.

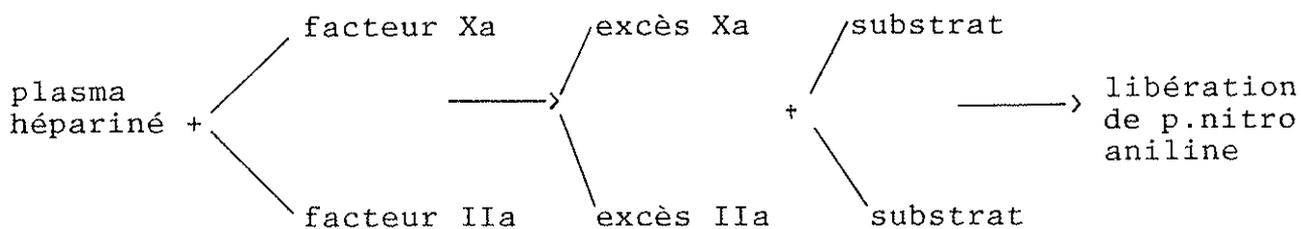
###### - Mesure de l'héparinémie circulante.

Le dosage qui nous intéressera est celui de l'activité anti-Xa. Tous les fabricants recommandent ce dosage par méthode amidolytique et donnent les résultats à obtenir pour la zone thérapeutique.

C'est une technique chromogénique. Elle utilise un substrat synthétique spécifique et un dosage en retour automatisable. Dans tous les dosages d'héparine une gamme d'étalonnage est réalisée avec un pool de plasmas de sujets normaux et avec la même héparine que celle qui est administrée au malade.

Avec la même méthode, on peut déterminer l'activité anti-Xa ou anti-IIa de l'HNF.

*Principe de la méthode amidolytique.*



La quantité de paranitroaniline libérée de coloration jaune est inversement proportionnelle à la quantité d'héparine présente dans le plasma à tester.(23) (1)

**b.Utilisation des tests.**

\* HNF:

La surveillance biologique du traitement des TVP par HNF fait essentiellement appel au TCA et à la mesure de l'activité anti-Xa et/ou anti-IIa.

\* HBPM

Le TCA n'étant pas ou que très faiblement modifié par les HBPM il n'est d'aucune utilité dans ce domaine excepté pour détecter en urgence un surdosage important. La seule possibilité est la détermination de l'activité anti-Xa circulante. Elle permet de vérifier que le médicament produit un effet biologique mesurable et les essais cliniques ont montré qu'il est associé à un effet clinique favorable.

L'activité anti-Xa n'est pas un paramètre quantitatif de l'activité antithrombotique qui dépend également du ratio Xa/IIa, elle n'apparaît d'ailleurs que peu corrélée à l'évolution phlébographique. Cependant, cette activité constitue un marquage fiable de la présence du produit dans le plasma; elle représente un bon marqueur biologique.(16)

#### IV.2.2 .Mode de surveillance.

##### a.Traitement préventif

##### a.1.HNF

\* risque faible:

Pas de surveillance

\* risque élevé:

-héparine calcique (voie sous-cutanée):

aucune surveillance biologique

sinon, le prélèvement devrait être fait à mi-chemin entre deux injections, pour un rythme d'administration de toutes les huit heures

La valeur du TCA doit être de 1,2 à 1,3 fois celle du témoin.

-héparine sodique:

La surveillance de l'hémostase doit être quotidienne par la mesure du TCA, puis adaptation des doses.

.En intravasculaire continu (IVC), le moment de prélèvement est indifférent, mais le premier prélèvement doit se faire au moins quatre heures après le début du traitement ou après un changement de posologie, de flacon, de seringue.

.En intravasculaire discontinue (IVD), le prélèvement doit se faire à mi-temps entre deux injections.

.La valeur du TCA doit être de 1,1 à 1,2 celle du témoin.

**a.2.HBPM**

Pour les HBPM, les prélèvements se font entre la troisième et la quatrième heure suivant l'injection car le pic des activités anti-Xa se situe à ce moment.

**\* Risque faible**

Pas de surveillance

Sinon, les valeurs des activités anti-Xa, pour les différentes HBPM, selon la dose injectée, sont:

HBPM	Dose UI antiXa ou mg	Héparinémie UI antiXa/ml
Fraxiparine	3000 UI/j	0,25-0,35
Lovenox	20 mg/j	0,10-0,20
Fragmine	2500 UI/j	0,10-0,25

**\* Risque élevé**

Dans le cas général, il n'est pas prévu de surveillance biologique pour aucune des HBPM. Il n'est jamais prévu d'adaptation des doses en fonction des résultats de l'activité anti-Xa.

Mais il existe des exceptions concernant un nombre limité de cas et de sujets où l'on devra s'assurer par une mesure de l'activité anti-Xa que les niveaux habituellement observés sont respectés.

Ces exceptions concernent:

- Les malades dont le poids s'écarte largement de la norme (sujets obèses ou très maigres), en effet, il a été clairement établi que pour une même dose d'HBPM injectée, l'héparinémie était significativement corrélée au poids du malade.

- Les insuffisants rénaux.

L'insuffisance rénale prolonge significativement la demi-vie des HBPM par phénomène d'accumulation.

- Les survenues d'accidents hémorragiques ou thrombotiques  
(1)

Les valeurs de l'activité anti-Xa pour les différentes HBPM, selon la posologie, sont:

HBPM	Dose UI anti-Xa ou mg	Héparinémie UI anti-Xa/ml
Fraxiparine	40-60 UI/kg/j	0,25-0,35
Lovenox	40 mg/j	0,30-0,40
Fragmine	5000 UI/j	0,35-0,45

### b. Traitement curatif

#### b.1. HNF

La surveillance est obligatoire.

La mesure du TCA se fait avant le traitement puis chaque jour jusqu'à la fin du traitement, avec adaptation des posologies aux besoins après chaque résultat.

Les valeurs doivent être:

Mode d'administration	Moment de prélèvement	Héparinémie (UI/ml)	TCA
IVC	indifférent	0,3-0,6	2-3
SC	entre 2 injections	0,3-0,6	2-3
	avant l'injection	0,15	1,5
IVD	entre 2 injections	0,3-0,6	2-3
	avant l'injection	0,15	1,5

**b.2.HBPM**

Une certaine surveillance est en général maintenue, mais elle est allégée par rapport à l'HNF.

Le message de Lovenox et Fraxiparine est : "La mesure de l'activité anti-Xa peut être effectuée afin d'apprécier la sensibilité des patients, en particulier en cas d'inefficacité clinique, d'hémorragie ou d'insuffisance rénale.

Pour Fragmine, un dosage d'activité anti-Xa est imposé afin d'adapter la posologie initiale en fonction du résultat.

On peut remarquer que ces recommandations évoluent rapidement, en même temps que les certitudes sur la sécurité d'emploi et la stabilité d'action s'affirment. En 1989, les recommandations préconisaient des contrôles de l'activité anti-Xa avant traitement puis à J2, J5, et J10. Maintenant, les auteurs s'accordent à dire qu'il reste prudent dans la pratique courante de surveiller l'activité anti-Xa par un contrôle quarante-huit heures après le début du traitement, c'est-à-dire entre trois et quatre heures après la troisième injection. Certains préconisent un autre contrôle au moment du passage aux AVK.(1)

La valeur de l'activité anti-Xa, pour toutes les HBPM, doit être de 0,5 à 1. Chez certains sujets à risque hémorragique élevé, une activité anti-Xa comprise entre 0,3 et 0,6 a été préconisée.

**V. RECAPITULATIF DES AVANTAGES DES HBPM PAR RAPPORT A L'HNF.**

Les HBPM ont une très grande biodisponibilité. La voie sous-cutanée peut donc toujours être utilisée, et même d'emblée (sans

bolus ou perfusion préalable), ce qui représente un avantage primordial pour le patient en matière de confort et pour le personnel soignant en matière de temps et donc de coût.

La longue demi-vie des HBPM permet aussi un rythme d'administration inférieur à celui de l'HNF par voie sous cutanée ( une par 24 heures en préventif ,deux en curatif, comparé à deux ou trois pour l'héparine calcique ).

Une étude médicoéconomique (19) montre que le coût d'un traitement de thrombose veineuse profonde par Fraxiparine était identique à celui par l'héparine standard, bien que les HBPM soient plus chères au prix d'achat, grâce au moindre coût de matériel, de tests biologiques et au gain de temps infirmier.

De nombreuses publications mettent en avant la meilleure stabilité des effets biologiques avec les HBPM. Les études pharmacocinétiques montrent que l'on peut à priori mieux prédire qu'avec les HNF l'activité anti-Xa plasmatique susceptible d'être obtenue après une injection. Les facteurs de variabilité inter individuels de l'effet biologique des HBPM sont donc moins importants qu'avec l'HNF. Il en découle des ajustements de posologies plus rares, une fréquence de contrôle biologique abaissée et une meilleure sécurité de traitement.(16) (32)

Un point important est le phénomène de la dissociation entre l'effet antithrombotique et l'activité anticoagulante des HBPM. Elles possèdent un bon effet antithrombotique du fait de leur forte activité anti-Xa, ce qui les rend aussi efficaces que l'HNF dans le traitement des thromboses veineuses profondes. Par contre elles ne modifient pas les tests de coagulation ( n'allongent pas le TCA) donc elles créent à priori une plus faible tendance

hémorragique que l'HNF, du fait de leur faible activité anti-IIa.  
(32)

Un autre avantage des HBPM concerne leur moindre affinité pour certaine protéines plasmatiques tel le PF4 ( effet moindre sur les plaquettes ),entraînant moins d'agrégation plaquettaire in vitro et donc moins de thrombopénies in vivo. (16)

Ces différents points, en faveur des HBPM, expliquent le développement de leur utilisation observé ces dernières années, et leur préférence à l'HNF dès que possible.

CHAPITRE V

EFFETS SECONDAIRES DES HEPARINES  
(Hors thrombopénies)

\*\*\*\*\*

I. Les hémorragies

II. Autres effets secondaires plus rares

\*\*\*\*\*

Les complications les plus fréquentes et les plus graves des héparines sont essentiellement les hémorragies (6,8 à 14,2%) (9) et les thrombopénies immunoallergiques (nous en parlerons en deuxième partie).

### I. LES HEMORRAGIES.

D'après les plaquettes des fabricants et les guides de thérapeutiques (38), elles surviennent essentiellement en présence de facteurs de risque associés: lésions organiques susceptibles de saigner, certaines associations médicamenteuses; ou bien en cas de non respect des contre-indications, de surdosage, de mauvaise surveillance, de thrombopénies importantes. Ces mentions sont valables pour l'HNF et les HBPM. Il paraît logique que l'utilisation de traitement anticoagulant implique un certain degré de risque hémorragique, qui est d'ailleurs minimisé par l'observation des règles d'utilisation.

#### - Le risque hémorragique de l'HNF:

La fréquence de ces accidents augmente avec la dose prescrite et le degré d'hypocoagulabilité mesuré par le TCA. Elle est plus importante quand l'héparine est administrée par voie IV discontinue que continue. La voie sous-cutanée apparaît aussi sûre que la voie intraveineuse continue. Ces accidents sont favorisés par l'âge, l'insuffisance rénale, les déficits congénitaux ou acquis des facteurs de l'hémostase, une intervention chirurgicale récente, les injections intra-musculaires et les traumatismes tissulaires. (7)

- Le risque hémorragique des HBPM:

Nous avons vu qu'une des propriétés qui distingue une HBPM de l'HNF est son faible pouvoir anticoagulant tel qu'il est défini par le TCA; en effet, le pouvoir anti-thrombotique est dissocié du pouvoir anticoagulant. Ces propriétés portent alors à penser que les HBPM offrent un meilleur rapport bénéfice antithrombotique/risque hémorragique. Mais l'analyse de la littérature montre qu'il n'en serait pas clairement ainsi.

Dans les années 80 on a montré par des essais sur des animaux tels que la transection de l'oreille du lapin ou les temps de saignement réalisés sur la queue du rat, que les HBPM étaient très nettement moins actives sur le saignement que l'HNF (7). En fait, le potentiel hémorragique augmenterait avec le degré de sulfatation et serait indépendant de la distribution de poids moléculaire. De même, l'activité pro-hémorragique d'une HBPM augmente avec son pouvoir anticoagulant mesuré par le TCA et cette activité est plus importante pour les fractions affines pour l'ATIII que pour les fractions non affines. (7)

Chez l'homme, de nombreux essais thérapeutiques ont montré sans ambiguïté que tout surdosage était associé à un risque hémorragique inacceptable. De même, il a été montré une relation significative entre la fréquence des accidents hémorragiques et l'activité anti-Xa plasmatique (supérieure à l'UI anti-Xa). Lorsque les HBPM sont administrées à la bonne dose, des études ont montré que pour une efficacité antithrombotique comparable, il existe une réduction relative de risque hémorragique de 21,2% (7). Mais cette réduction n'atteindrait pas le seuil de significativité. Une autre étude montre qu'en terme d'accident grave de tolérance (thrombopénies et hémorragies mélangées), on a l'impression d'un

léger surcroît de risque chez les malades traités par l'HNF, à doses adaptées dans tous les cas par rapport à ceux des groupes sous HBPM, certains traités avec une adaptation des doses et d'autres à doses fixes: 5,6% d'hémorragie contre 3,3% (27). Les auteurs pensent que cette différence est faible.

Il semble donc, (au vu des parutions), que malgré les attentes, largement argumentées, sur la réduction du pouvoir hémorragique par les HBPM, les essais ou constatations thérapeutiques ne mettent pas vraiment en avant cet avantage potentiel.

La protamine, sous forme de chlorhydrate ou de sulfate est le seul antidote de l'effet hémorragique des héparines (HNF et HBPM). Le sulfate de protamine neutralise complètement les effets anticoagulants de l'HNF. En effet, son action neutralisante est dirigée essentiellement contre l'activité antithrombine. Par contre, l'activité anti-Xa des HBPM est incomplètement neutralisée. Il est donc plus difficile de neutraliser un traitement par les HBPM qu'un traitement par l'HNF.

Les doses de sulfate de protamine recommandées sont identiques pour l'HNF et les HBPM: 1 mg pour 100 UI d'HNF et 1 mg pour 100 UI anti-Xa (1). En cas de surdosage thérapeutique bien documenté, la protamine est injectée par voie intraveineuse. La dose utilisée sera fonction de l'héparinémie déterminée par la dose d'héparine injectée et le temps de demi-vie de l'héparine considérée.

La neutralisation semble efficace pour arrêter le saignement, mais dans le cas des HBPM, une importante activité anti-Xa résiduelle persiste, et ce même pour des doses très élevées de protamine (50 à 60% de l'activité anti-Xa).(31)

Mais l'utilisation de protamine n'est pas sans effet secondaire. Elle peut entraîner chez de rares sujets des accidents de

bradycardie et d'hypotension, on parle même de réactions gravissimes telles des hypertensions artérielles pulmonaires sévères avec bronchoconstriction due à une libération aiguë de thromboxane entraînée par la protamine. Il faut donc mettre en balance ce risque d'intolérance et le risque hémorragique réel.

(25)

## II. AUTRES EFFETS SECONDAIRES PLUS RARES.

- L'administration par voie sous-cutanée peut entraîner l'apparition de petits hématomes au point d'injection.

- Il est notifié quelques réactions possibles cutanées ou générales pouvant aller jusqu'au choc anaphylactique.

En cas d'hyperéosinophilie et de manifestations cutanées associées, il faut stopper l'héparine car l'évolution peut se faire vers des nécroses cutanées extensives parfois léthales (9). Ces rares observations de nécroses cutanées survenant généralement au point d'injection, sont précédées de l'apparition de purpura ou de placards érythémateux, infiltrés et douloureux avec ou sans signes généraux.

Après la survenue de manifestations allergiques associées à l'héparine, des cas exceptionnels de choc anaphylactique, voire de décès, ont été rapportés après une tentative de réintroduction d'une héparinothérapie. Cela impose en cas d'allergie à l'héparine des précautions d'emploi lors de réadministration: il est nécessaire de pratiquer des tests sous-cutanés avec des préparations d'HNF ou d'HBPM (9) car il existe des réactions

cutanées croisées entre ces produits, ce qui, en cas de positivité des tests les contre-indique définitivement (9).

- Lors de traitement prolongé, un risque d'ostéoporose est à craindre. Il augmente en cas de facteurs favorisants tels l'âge, la ménopause, la grossesse, l'immobilisation, l'association aux corticoïdes.

- Réactions diverses( et exceptionnelles):

- augmentation des transaminases

- alopécie

- priapisme

- hypoaldostéronisme avec hyperkaliémie et/ou acidose métabolique chez patient à risque (diabétiques, insuffisants rénaux).

(38)

**PARTIE II****LES THROMBOPENIES INDUITES PAR L'HEPARINE (TIH)**

Chapitre I	Analyses bibliographiques
Chapitre II	Travail de recherche personnel Comparaison de deux méthodes de diagnostic biologique

## CHAPITRE I

## ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

\*\*\*\*\*

## Introduction

## I. La TIH type I

## II. La TIH type II

## II.1. Fréquence

## II.2. Chronologie

## II.3. Physiopathologie

## II.3.1. Formation des anticorps

## II.3.2. Activation des plaquettes

II.3.3. Résumé des conditions nécessaires au  
développement d'une TIH

## II.3.4. Différence entre HNF et HBPM

## II.4. Prévention des TIH

## II.5. Traitement

## II.6. Diagnostic

\*\*\*\*\*

## Introduction.

Les thrombopénies induites par l'héparine (TIH) sont des effets secondaires des traitements hépariniques. Nous pouvons d'emblée distinguer deux types bien différents de TIH différenciés sous les appellations de TIH type I et TIH type II.

La TIH de type I est qualifiée de précoce, modérée, transitoire et bénigne. Elle résulte d'une action directe de l'héparine sur les plaquettes. Elle ne nécessite pas l'arrêt du traitement héparinique.

Ce type I sera donc traité brièvement.

La TIH type II est au contraire très préoccupante.

Elle touche un pourcentage faible mais significatif de patients traités par l'héparine, et surtout par l'HNF.

Ces thrombopénies n'ont été réellement individualisées et décrites qu'à partir des années 70. Elles restent un effet secondaire majeur de l'héparinothérapie vu la gravité des effets cliniques qu'elles provoquent, le plus souvent des manifestations thrombotiques et parfois hémorragiques.

L'estimation d'une incidence est rendue particulièrement malaisée du fait que considérée comme un effet classique, cette pathologie est rarement déclarée au réseau de pharmacovigilance.

Cet effet secondaire reste aujourd'hui très difficile à gérer vu qu'il n'existe pas de diagnostic biologique simple et rapide, ni de conduite thérapeutique sûre.

### I. LA TIH TYPE I.

La TIH type I survient dès le début du traitement, toujours avant le cinquième jour. La thrombopénie est modérée, avec un nombre de plaquettes compris entre 100 et 150.000/mm<sup>3</sup>, spontanément réversible sans arrêt de l'héparine. Elle n'entraîne aucune complication, en particulier thrombotique. (3) (11)

La fréquence de survenue de ces thrombopénies varie selon les études publiées de 1% à 30% (selon les posologies d'héparine utilisées, les modalités de surveillance, le type d'héparine administrée). (11)

Sur le plan biologique, le plasma ou le sérum du malade n'induit pas d'agrégation plaquettaire en présence d'héparine et aucune anomalie de l'hémostase n'est retrouvée.

Au point de vue physiopathologique, la thrombopénie résulte probablement d'une interaction directe de l'héparine avec les protéines de surface plaquettaire. En plus, l'héparine potentialise l'agrégation induite par l'ADP, action pouvant être liée à une augmentation de la fixation plaquettaire ADP dépendante du fibrinogène. (11)

Pour ce type de thrombopénies, il n'y aurait pas de différences quant à la fréquence de survenue, entre les HBPM et l'HNF. (39)

## II. LA TIH TYPE II.

### II.1. Fréquence.

La fréquence des TIH type II a longtemps été difficile à estimer, vu que de très nombreuses études statistiques annoncent des résultats très variables, allant de 0 à 30%. Ces résultats dépendent en fait de plusieurs paramètres variant d'une étude à l'autre: le type d'héparine utilisé, la population étudiée, la définition de la thrombopénie et la qualité de l'étude. Globalement, selon de récentes études, l'incidence serait estimée à 1,1% pour l'héparine porcine et 2,9% pour l'héparine bovine.

Plus précisément, l'incidence chez les patients recevant de très petites doses sous-cutanées d'héparine en prophylaxie est très faible.(8)

La TIH survient essentiellement au cours de traitement par l'HNF, sa fréquence serait de 1% chez les malades traités à dose curative d'HNF d'origine porcine (12). Dans la plupart des cas (80%), la TIH survient lorsque le traitement héparinique a été institué dans un but curatif ou lorsqu'il existe une pathologie vasculaire (18). La TIH survient également surtout chez certains malades (thrombose récente, chirurgie avec pose de matériel prothétique, syndrome myéloprolifératif) pour lesquels on peut discuter l'existence de modifications membranaires plaquettaires avec l'expression de néoantigènes nécessaires au développement du processus immunologique responsable de la TIH.(11)

Même si les cas sont plus rares, les TIH peuvent être induites exceptionnellement par les HBPM administrées en première intention. Elles sont plus fréquentes si le patient a été

préalablement traité par de l'HNF, à cause de la réactivité croisée des anticorps héparine-dépendants (8). Des cas cliniques ont laissé suggérer que l'HNF peut induire la formation d'anticorps capables de réagir avec une HBPM, même si cette HBPM administrée en première intention n'est pas susceptible d'induire la formation de ces anticorps (11). Pour exemple, il a déjà été relaté dans un article médical, un cas de thrombopénie grave sous Fragmine associant embolie pulmonaire et coagulopathie de consommation chez une femme ayant reçu un mois auparavant un traitement d'une semaine par HNF sans complication.(17)

Très rarement, la TIH peut être induite par des héparinoïdes comme le polysulfate de pentosane (Hémoclar).(3)

En ce qui concerne les complications, les hémorragies sont rares, elles représenteraient moins de 20% des cas, et souvent bénignes; en revanche, les complications thromboemboliques sont fréquentes: elles sont associées à la thrombopénie chez près d'un malade sur deux pour certains (12), chez 18 à 25 % des patients pour d'autres (8). Elles sont en tout cas responsables d'une lourde morbidité et mortalité.(11)

## **II.2.Chronologie.**

La TIH type II survient de façon retardée et progressive. Elle arrive en général à partir du cinquième jour de traitement, mais est observée avec une fréquence maximum entre le septième et le dixième jour.

Elle peut survenir plus précocement en cas d'exposition préalable à l'héparine.

Elle est exceptionnelle après vingt-et-un jours.

Biologiquement, elle se traduit par une chute sévère des plaquettes, au moins en dessous de 100.000, ou de 50% par rapport au nombre initial, et la plupart du temps la numération plaquettaire atteint une valeur égale ou inférieure à 50.000/mm<sup>3</sup>. Après l'arrêt de l'héparine, les plaquettes retrouvent leur concentration normale de façon très rapide, en deux à cinq jours en général.(3) (18)

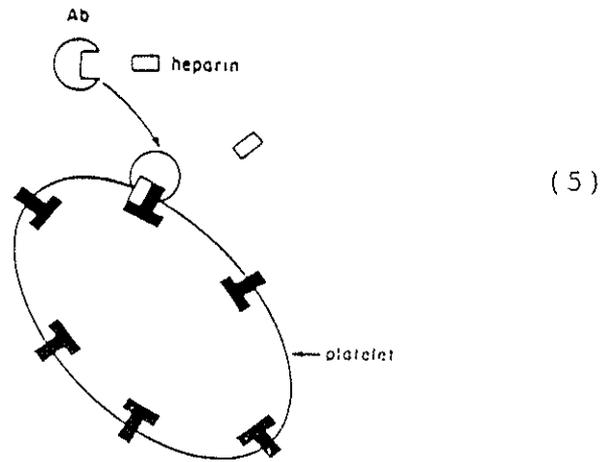
### **II.3. Physiopathologie.**

L'origine immunologique de la TIH ne fait maintenant plus aucun doute.

#### **II.3.1. Formation des anticorps.**

Plusieurs théories sur le mécanisme exact de l'interaction entre les anticorps les plaquettes et l'héparine ont été proposées.

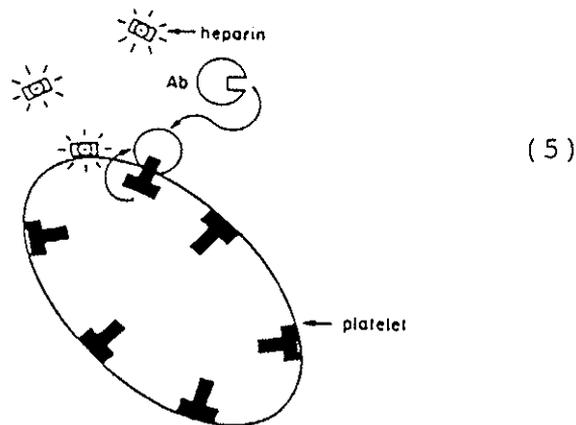
- L'héparine pourrait agir comme un haptène fixé sur la membrane plaquettaire, le néoantigène complet inducteur de la réaction immune étant constitué par l'association de la molécule d'héparine avec certains composants de la membrane plaquettaire situés près du site de fixation (18). Wolf et Wick ont identifié deux protéines de la membrane plaquettaire ayant une affinité pour l'héparine et devenant immunogènes après fixation d'héparine.(40)



Selon une autre publication, les anticorps seraient dirigés contre de nombreuses cibles, mais il s'agirait principalement de l'antigène CD9 et des GPIIb et IIIa. (28)

Plus tard d'autres ont dit que les GPIIb et IIIa n'intervenaient pas. (12)

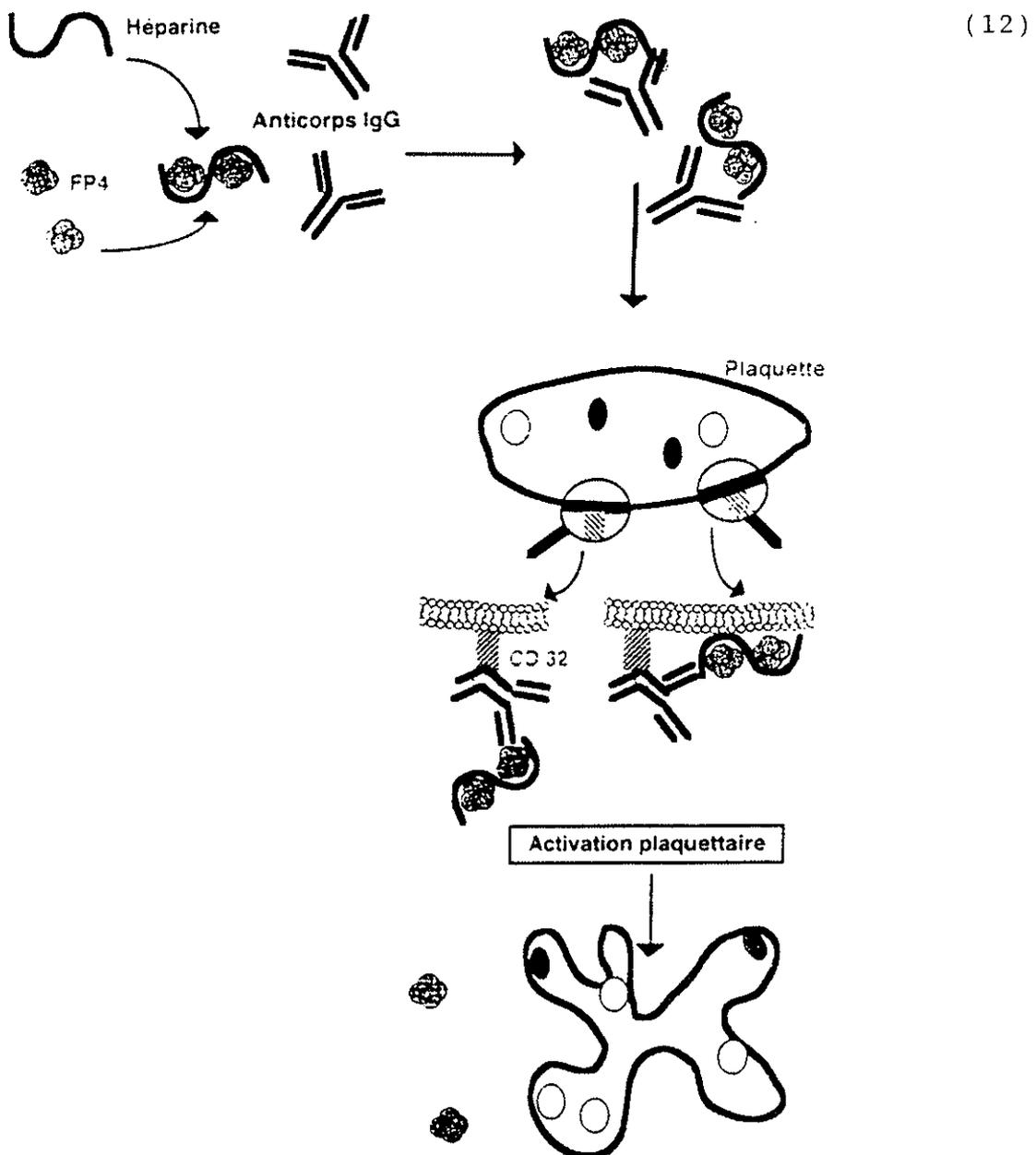
- Pour Lynch et Howe, la forte charge négative de l'héparine serait responsable lors de sa fixation sur les plaquettes d'une modification conformationnelle de leur membrane conduisant à une "mise à nu" de la substance immunogène d'origine plaquettaire. (22)



- Maintenant il est certain que le PF4 entre en jeu, et des complexes macromoléculaires héparine-PF4 seraient formés sur les récepteurs plaquettaire au PF4 (2). Il a été prouvé que l'antigène majeur reconnu par les anticorps héparine-dépendants était constitué d'héparine complexé au PF4. (12)

La présence d'anticorps anti-complexe héparine-PF4 a été mise en évidence à plusieurs reprises.

- Alors que dans ces théories les anticorps sont formés en réponse à un complexe antigénique comprenant la membrane plaquettaire, d'autres théories expliquent que les complexes héparine-PF4 circulants provoqueraient la formation d'anticorps, ensuite ces immun-complexes se fixeraient sur les plaquettes par le récepteur au PF4, ou directement par le fragment Fc des anticorps sur le récepteur CD32 des plaquettes. (8) (11)



### II.3.2.Activation des plaquettes.

#### a.Fixation du fragment Fc.

Selon la plupart des théories évoquées, il résulte finalement que les anticorps sont fixés par leur fragment ab aux complexes héparine-PF4 situés sur les récepteurs au PF4 de la plaquette. Cela active les fragments Fc des anticorps de type IgG (immunoglobuline G ) et ces fragments Fc se fixent alors sur les récepteurs plaquettaires, induisant l'activation plaquettaire.(9)

Le récepteur du fragment Fc des anticorps IgG = Fc gamma RII a été identifié comme étant le CD 32.

La première étape d'interaction de l'anticorps avec l'antigène cible est cruciale: elle est nécessaire pour augmenter l'affinité du domaine Fc de l'anticorps pour son récepteur:(celui-ci n'a en effet d'affinité détectable que pour les Ig agrégées ou les immun-complexes). (28)

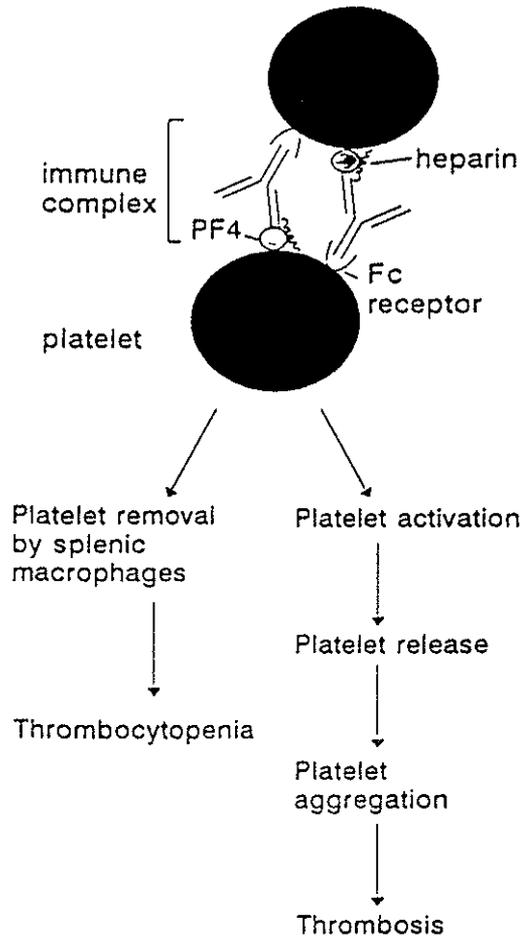
La liaison de la partie Fab de l'anticorps à l'antigène plaquettaire héparine-dépendant permet donc l'interaction de la partie Fc avec son récepteur Fc gamma RII sur la même ou une autre plaquette. (12)

En effet deux modes de recrutement du récepteur CD32 ont été identifiés in vitro:

-L'activation intraplaquettaire correspond au recrutement du récepteur présent sur la même plaquette que l'antigène.

-L'activation interplaquettaire correspond au recrutement du récepteur sur une autre plaquette: c'est en fait une activation par l'immun-complexe "plaquette/anticorps". Ce dernier mécanisme est dépendant de la concentration plaquettaire: l'activation n'est plus observée au-delà d'une certaine dilution des plaquettes. Une

stabilisation de la numération plaquettaire serait donc possible autour d'une valeur-seuil lors des thrompénies où un tel mécanisme entrerait en jeu.(28)



### b. Nature des anticorps.

L'isotypage a permis de démontrer que les trois isotopes IgG, IgA ou IgM pouvaient être présents; IgG chez 2/3 des patients, IgA ou IgM ou IgA + IgM chez 1/3. Les patients qui n'ont pas d'IgG ont souvent des tests d'agrégation plaquettaire négatifs. Par contre la fréquence de thrombose est la même chez les patients avec ou sans IgG; ces résultats étant en désaccord avec d'autres études qui mettent en avant le rôle pathogène de l'interaction du fragment Fc avec les récepteurs plaquettaires Fc gamma RII.

Ces résultats statistiques suggèrent que c'est le site anticorps plutôt que le fragment Fc des IgG qui joue un rôle essentiel dans la pathogénicité, expliquant le rôle également pathogène des IgA et IgM. La fixation du fragment Fc sur le récepteur Fc gamma RII ne ferait qu'amplifier l'effet activateur et proagrégant.(3)

### **c. Conséquences de l'agrégation plaquettaire Complications**

L'activation des plaquettes entraîne rapidement la libération des contenus granulaires: granules denses et granules alpha (12), d'agents agrégants tels l'ADP, le thromboxane A<sub>2</sub> (11), sans lyse cellulaire. Il s'en suit un phénomène d'agrégation plaquettaire, responsable de la thrombopénie, des éventuelles complications hémorragiques et thrombotiques.

Des anomalies de la coagulation sont associées à la thrombopénie dans un quart des cas, pouvant varier d'une simple élévation des produits de dégradation de la fibrine à un tableau complet de coagulopathie de consommation avec diminution du fibrinogène, des facteurs du complexe prothrombinique (FII,V,VII,X) ou des taux d'ATIII et de protéine C.(12)

Les thrombi extraits chirurgicalement ont un aspect blanchâtre d'où l'appellation de "syndrome du caillot blanc", et sont à l'examen histologique fibrinoplaquettaires mais aussi très riches en leucocytes, monocytes et cellules macrophagiques.(11)

Le tableau clinique va donc être dominé par les complications thrombotiques.

Les thromboses artérielles peuvent toucher tous les territoires vasculaires (surtout aorte et branches iliaques, mais aussi

coronaires, troncs artériels des membres supérieurs et artères cérébrales), elles sont souvent multiples, extensives et emboligènes, notamment en cas d'atteinte aortique. Des prodromes douloureux des membres inférieurs et de l'abdomen peuvent précéder de vingt-quatre à quarante-huit heures l'apparition des thromboses et sont attribués au départ de microembols plaquettaires à partir de thromboses intraaortiques infracliniques.

Les thromboses veineuses profondes et les embolies pulmonaires sont plus fréquentes (mais leur incidence est souvent sous-estimée).

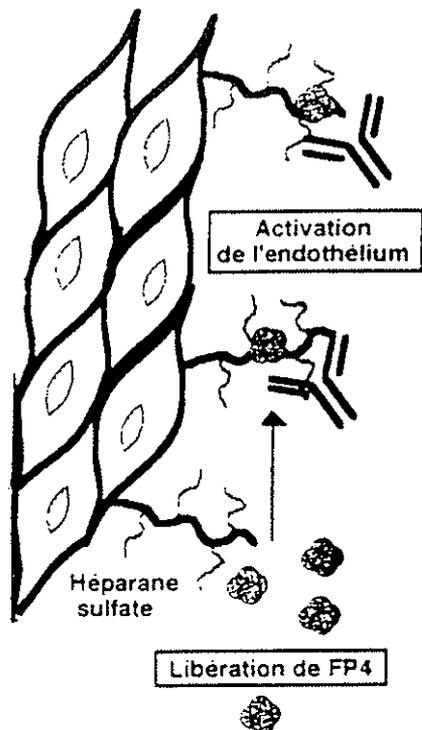
Les manifestations hémorragiques sont plus rarement signalées (environ 20% des cas) et le plus souvent bénignes (purpura, hémorragies cutanéomuqueuses). (11) (12)

La survenue de complications thromboemboliques au niveau de gros troncs artériels ou veineux a conduit certains auteurs à incriminer et à démontrer l'existence d'une réactivité croisée vis à vis des cellules endothéliales, des anticorps dirigés contre les plaquettes. (18)

Le PF4, libéré des alpha-granules plaquettaires, peut se lier aux glycosaminoglycanes présents non seulement au niveau des plaquettes, mais aussi des cellules endothéliales. Les anticorps peuvent alors activer l'endothélium induisant l'augmentation de synthèse du facteur tissulaire: ce processus pourrait contribuer à l'activation de la coagulation et au développement des thromboses (12). Il a également été suggéré qu'après fixation des anticorps, la cellule endothéliale pourrait être incapable de s'opposer efficacement au processus procoagulant induit par les plaquettes activées, surtout si la paroi vasculaire était préalablement altérée.

Il est donc vraisemblable qu'une lésion immunologique simultanée des plaquettes et des cellules endothéliales soit responsable des complications thromboemboliques observées.(18)

(12)



### II.3.3. Résumé des conditions nécessaires au développement d'une TIH.

Il a été remarqué que certains patients présentant des anticorps anti héparine-PF4, n'avaient pas de TIH, donc la présence de ces anticorps ne suffit pas pour induire une thrombopénie. Les conditions suivantes ont donc été définies comme étant nécessaires:

\* Lorsqu'un patient est traité par l'héparine, le PF4 est mobilisé et libéré dans la circulation. Si le rapport PF4/héparine le permet, des complexes macromoléculaires immunogènes sont formés. Le rapport optimum est de vingt-cinq unités d'héparine (environ 175 µg) par mg de PF4.

\* Le patient s'immunise et développe des IgA, M ou G qui réagissent avec les complexes héparine-PF4 présents à la surface plaquettaire au niveau des récepteurs au PF4. En effet lors de l'activation par des traces de thrombine les plaquettes exposent un nombre important de récepteur du PF4 jouant un rôle régulateur essentiel dans l'activation plaquettaire

\*Si des plaquettes activées sont en circulation, elles fixent les complexes macromoléculaires PF4-héparine qui réagissent avec les anticorps, ce qui entraîne l'activation et l'agrégation.

Les trois conditions sont donc:

- présence dans la circulation de PF4 et d'héparine dans un rapport permettant la formation de complexes macromoléculaires.
- présence d'anticorps anti PF4-héparine.
- présence de plaquettes activées.(3)

Pour d'autres, l'hypothèse d'une forte variation de réactivité des plaquettes vis à vis des anticorps héparine-dépendants a été proposée (39). Ce fait a été plusieurs fois confirmé en disant que certaines plaquettes pouvaient être que peu ou pas sensibles à l'action des anticorps.

Un dernier cas reste à élucider: celui où l'on ne retrouve pas d'anticorps anti héparine-PF4 chez des patients présentant une TIH et ayant un test d'agrégation plaquettaire positif. Pour expliquer ce phénomène, l'implication d'antigènes autres que le PF4 a été suggérée pour de rares cas. Il a été trouvé la présence d'anticorps dirigés contre l'IL<sub>8</sub> et le NAP-2 agissant par un mécanisme indirect et impliquant les neutrophiles.(3)

#### II.3.4. Différence entre HNF et HBPM.

Le fait que l'on retrouve plus de TIH chez les patients sous HNF que chez les patients sous HBPM peut s'expliquer d'après les données biologiques. Les HBPM apparaissent être beaucoup moins immunogènes que l'HNF.(39)

D'abord le PF4 a moins d'affinité pour les HBPM que pour l'HNF, donc la formation de complexes macromoléculaires héparine-PF4 va être moins abondante.

Ensuite, même si les HBPM sont aussi capables de fixer les anticorps en présence de PF4, moins l'héparine contient d'unités saccharidiques et plus elle doit être en concentration élevée par rapport au PF4 pour que les complexes ainsi formés réagissent de façon optimale avec les anticorps.

Le degré de sulfatation de l'héparine intervient également et la réactivité des anticorps est d'autant plus forte que celui-ci est élevé.(2)

C'est pourquoi, les TIH associées à une manifestation thromboembolique sont plus fréquentes chez les patients traités avec des HNF que chez ceux traités avec des HBPM.(39)

#### II.4. Prévention des TIH

La prévention primaire de la TIH consiste à réduire chaque fois que possible la durée du traitement héparinique à cinq jours ou une semaine en le relayant précocement par les AVK.

La prévention secondaire repose sur la surveillance systématique de la numération plaquettaire au cours du traitement héparinique.

Les protocoles de surveillance des numérations plaquettaires (vus Chapitre IV) doivent être respectés scrupuleusement aussi bien pour les HBPM que pour l'HNF.

Toute baisse significative de la numération plaquettaire: 30 à 50 % de la valeur initiale, ou en dessous de  $100.000/\text{mm}^3$  doit donner l'alerte et cela avant même que cette valeur n'atteigne un seuil critique.(18)

La constatation d'une diminution du nombre des plaquettes impose dans tous les cas:

- . un contrôle immédiat de cette numération.
- . la suspension du traitement héparinique.
- . une décision thérapeutique selon le cas.

Le problème de la réadministration d'héparine à des patients ayant des antécédents de TIH fait également partie des questions de prévention.

Deux cas se présentent:

. Lorsque les anticorps sont encore présents dans le plasma ou sur la membrane des plaquettes du malade, la récurrence de la thrombopénie est en général précoce et parfois très rapide, pouvant survenir en quelques dizaines de minutes.

Dans ce cas la réintroduction d'héparine est à proscrire. Si l'incident avait eu lieu sous HNF, l'introduction d'HBPM est à discuter en fonction des tests biologiques montrant ou pas une réactivité croisée.

. Après la disparition des anticorps, trois à six mois en moyenne mais parfois plus, plusieurs patients ont pu bénéficier sans dommage d'une nouvelle héparinothérapie. Cependant une récurrence peut par contre survenir mais de manière inhabituellement retardée si le traitement est prolongé. En effet la réponse

anticorps semble obéir à un processus différent de la réaction anamnesticque (production précoce et à titre élevé d'anticorps spécifiques de l'antigène lors de la seconde administration de ce dernier). Donc dans ce cas, la réintroduction d'héparine (HNF ou HBPM) doit se faire de manière prudente pendant une période aussi brève que possible.(18)

### **II.5.Traitement des TIH**

On peut d'emblée noter l'absence de consensus thérapeutique. La conduite à tenir devant une TIH doit être déterminée au cas par cas selon les différents paramètres:

- . L'existence de nouvelles thromboses et leur site.
- . Le contexte chirurgical et le risque thrombotique.
- . La nécessité d'un relais thérapeutique immédiat ou la possible interruption temporaire du traitement anticoagulant permettant un relais par les anticoagulants oraux = anti-vitamine K (AVK).

La seule mesure faisant l'unanimité des auteurs est l'arrêt de l'héparine.

Ensuite un certain nombre de protocoles peut être envisagé selon la situation biologique et clinique, sachant qu'actuellement il n'existe pas de technique idéale et que la décision prise découlera d'une série de compromis.

Voyons quelles peuvent être ces mesures.

#### **II.5.1.Les AVK.**

En pratique, les anticoagulants les plus employés restent aujourd'hui les AVK. Leur inconvénient est leur délai d'action

retardé: deux à cinq jours, ce qui restreint leur emploi systématique.

Le plus souvent, la situation clinique permet d'attendre que les AVK à court délai d'action : Tromexane, Sintron, soient efficaces sans qu'il soit nécessaire de recourir à un traitement intermédiaire.

Sinon un traitement par AVK est quand même mis en place, parallèlement à une autre anticoagulation efficace pendant l'intervalle imposé par le délai d'action:(18)

Trois possibilités s'ouvrent alors:

- . les antiagrégants plaquettaires ( AAP )
- . les HBPM
- . les mesures spécifiques aux thromboses graves.

#### **II.5.2.Les HBPM.**

De nombreuses TIH ont été traitées avec succès par des HBPM. Mais on s'est aperçu que certains patients aggravait au contraire leur thrombopénie. Ces patients avaient un test d'agrégation positif en présence d'HBPM, c'est pourquoi, ensuite, l'utilisation des HBPM n'a été possible que si les tests d'agrégation plaquettaire in vitro étaient négatifs en présence d'HBPM (18) (35). Malgré ces observations, CM.Samana et T.Lecompte en 1993 préconisent l'utilisation des HBPM, quels que soient les résultats des tests, pendant le relais. Par contre la surveillance doit être renforcée: numération plaquettaire biquotidienne obligatoire, et une diminution supplémentaire à vingt-quatre heures ou une absence de remontée franche à quarante-huit heures du taux des plaquettes doit conduire à un arrêt du traitement.(33)

Des études statistiques moins favorables à une utilisation systématique des HBPM ont suggéré qu'il pourrait exister une relation entre l'intensité de la thrombopénie et/ou l'existence d'une atteinte vasculaire ou de manifestations thrombotiques, et l'apparition de réactions croisées avec les HBPM. Or, c'est dans ce cas, qu'on aurait besoin des HBPM pour pallier le délai d'action des AVK. En outre dans cette situation, il est impossible d'attendre les résultats des tests d'agrégation plaquettaires. C'est pourquoi, l'intérêt des HBPM serait réduit dans les cas graves.(18)

#### **II.5.3 .Les héparinoïdes.**

Il s'agit actuellement de Organon 10172 (Lomoparan), qui est un héparinoïde composé essentiellement de dermatan sulfate et d'héparan sulfate. La fréquence de réactions croisées avec ce type de composés serait très faible. Son utilisation a déjà donné de bons résultats. Ce produit reste encore dans les solutions d'avenir, il n'est pas disponible en France sauf par le biais d'une autorisation temporaire d'utilisation.(12)

#### **II.5.4 .Les AAP.**

Ils limitent la synthèse de substances agrégantes par les plaquettes activées.

Leur emploi ne semble utile que lorsque l'anticorps héparine-dépendant et l'héparine responsable de l'activation plaquettaire sont présents simultanément en circulation. En pratique, il s'agit des cas où l'existence d'une complication thromboembolique impose un geste chirurgical de revascularisation avec reprise ponctuelle de l'héparine (18). En effet pour les cas nécessitant une

chirurgie vasculaire ou cardiaque, notamment avec circulation extra-corporelle ( CEC ), une rehéparinisation est inévitable et l'emploi d'AAP a été proposé simultanément.(12) (13)

#### **a.L'aspirine.**

L'aspirine inhibe de façon irréversible la cyclooxygénase plaquettaire et conduit à un défaut de synthèse de thromboxane A<sub>2</sub> pendant la durée de vie des plaquettes.

Elle a déjà été utilisée avec succès, cependant son efficacité n'est pas constante; selon certaines études, elle ne prévient pas, ou de façon insuffisante l'activation plaquettaire induite par les anticorps héparine dépendants.(18) (13)

#### **b.L'iloprost.(illoméidine).**

C'est un analogue stable de la prostacycline. Il a un puissant effet AAP et vasodilatateur qui semble capable in vitro d'inhiber dans tous les cas l'activation des plaquettes induite par les anticorps héparine-dépendants.

In vivo, son intérêt n'est pas encore démontré, en plus, les doses nécessaires entraineraient une hypotension artérielle sévère qu'il faudrait contrôler. L'association à d'autres AAP semble permettre une réduction de posologie. L'iloprost a été essentiellement utilisé au cours de CEC. Ce médicament n'est pas encore commercialisé en France et n'est disponible que dans le cadre d'études contrôlées.(18) (13)

#### **c.Les dextrans.**

Ce sont des polysaccharides semi-synthétiques dont l'effet antithrombinique est dû à l'interférence avec l'agrégation des plaquettes et la polymérisation des monomères de fibrine. Il a été montré que le dextran 40 pouvait réduire de manière assez efficace

l'agrégation plaquettaire induite par l'anticorps héparine-dépendants, vraisemblablement par inhibition compétitive de la fixation d'héparine sur la membrane plaquettaire.

A la phase aiguë de la TIH, le dextran 40 administré en peropératoire en remplacement de l'héparine a permis de traiter plusieurs malades ayant une thrombose artérielle imposant un geste urgent de revascularisation chirurgicale. Ainsi en cas de thrombose artérielle et/ou veineuse associée, et en attendant que les AVK soient efficaces, les dextrans peuvent être utilisés comme traitement anticoagulant substitutif qu'il y ait ou non nécessité d'un geste chirurgical.(18)

#### **d. Dipyridamole.**

Action inconstante comparable à celle de l'aspirine.

#### **e. Ancrod. (Arvin Knoll).**

C'est du venin de la vipère de Malaisie.

Il inhibe l'agrégation plaquettaire en diminuant le taux de fibrinogène. Il induit la formation de caillots de fibrine instables et friables, très sensibles à l'action lytique de la plasmine. Il a déjà fait la preuve de son efficacité clinique et ce, même sans utilisation concomitante d'héparine. Cependant le mode d'action de ce produit constitue un facteur limitant car il entraîne une chute du fibrinogène plasmatique qui n'est pas toujours souhaitable ni contrôlable. Peu d'études ont été réalisées avec ce produit, mais les résultats ont été favorables.(33)

#### **f. L'hirudine.**

L'hirudine est un antithrombotique spécifique issu de la salive de sangsues; elle est à présent produite par génie génétique. Elle

fait l'objet de nombreux travaux pour la prévention et le traitement des thromboses veineuses ou artérielles. Elle n'a aucune parenté chimique avec l'héparine et ne dépend pas de l'ATIII.(33)

Ce produit est présenté par beaucoup comme le traitement d'avenir de choix des TIH.(12)

#### **II.5.5.Les thrombolytiques.(Streptokinase).**

Ils sont indiqués en cas de thromboses veineuses profondes proximales menaçantes et/ou compliquées d'embolies pulmonaires. Leur utilisation comporte un risque théorique élevé de complication hémorragique.

Les différents procédés chirurgicaux de désobstruction vasculaire, sont nécessaires en cas de thrombose artérielle ou d'embolie pulmonaire massive.(18)

#### **II.5.6.Les techniques immunologiques.**

Une autre approche propose l'emploi d'Ig humaines à forte dose (0,5 à 1g/kg) durant deux jours afin d'inhiber in vivo l'activation plaquettaire induite par la liaison des anticorps héparine-dépendants aux récepteurs par les fragments Fc. L'efficacité réelle d'un tel traitement reste encore à démontrer (12). D'autres ont tenté avec succès des échanges plasmatiques. Le principe de l'épuration plasmatique du facteur pro-agrégant héparine-dépendant semble séduisant. Certains auteurs rapportent même une normalisation rapide de la numération plaquettaire après injection d'Ig.(31)

Un autre projet concerne certains anticorps capables de réagir secondairement avec le récepteur CD32 sans toutefois induire

d'activation. De tels anticorps, humanisés, pourraient permettre de bloquer in vivo le récepteur plaquettaire CD32 dans une visée thérapeutique.

### Conclusion.

Si l'arrêt immédiat de l'héparinothérapie en présence d'une TIH fait bien-sûr l'objet d'un consensus, il persiste un certain flou pour la prise en charge thérapeutique des patients.

Les antiagrégants usuels (aspirine, dipyridamole, dextran) ne jouent en principe qu'un rôle d'appoint dans le traitement.

Les AVK, utilisés de manière très large dans cette indication voient leur utilisation restreinte par leur trop long délai d'action.

Les HBPM, après avoir suscité bien des espoirs, ne constituent plus la base incontournable d'un traitement même si leur prescription à dose hypocoagulante est peut-être encore légitime dans certains cas, à la condition expresse d'une surveillance bi-quotidienne de la numération plaquettaire.

L'Ancrod, le Lomoparan et l'hirudine ne sont pas actuellement commercialisés en France, mais ces molécules sont accessibles auprès de l'industrie pharmaceutique. Elles n'ont pas encore d'AMM et doivent être prescrites sous la responsabilité d'un expert. Elles apparaissent comme des médicaments d'avenir.

### II.6. Diagnostique.

Le diagnostic de certitude des TIH type II est encore aujourd'hui d'une grande difficulté.

Il est loin d'être essentiellement biologique et nécessite une enquête clinique minutieuse. En effet, la contribution du laboratoire au diagnostic reste aujourd'hui peu satisfaisante et ne répond qu'imparfaitement à la demande souvent pressante du clinicien.

La démarche de l'imputabilité prend en compte le déroulement chronologique (vitesse d'apparition, régression à l'arrêt, récurrence lors de la réintroduction) puis l'ensemble des causes non médicamenteuses possibles, selon la symptomatologie décrite. Ce n'est qu'à la fin, qu'elle cherche si parmi les médicaments d'imputabilité égale, des éléments bibliographiques permettent de côter l'un d'entre eux plus haut que les autres.(36)

Le diagnostic va donc pouvoir être affirmé sur:

-une thrombopénie isolée avec une chute des plaquettes d'au moins 30 % ou en deçà de 150.000, au cours d'une héparinothérapie, avec un temps de latence de cinq jours au moins.

-l'absence d'une autre étiologie à la thrombopénie (infection, autres médicaments...).

-la correction de la numération plaquettaire en deux à cinq jours après l'arrêt de l'héparine.

-les tests biologiques recherchant la présence dans le sérum ou le plasma d'un anticorps héparine-dépendant.(11) (35)

Le diagnostic biologique est dominé jusqu'à présent par les tests d'agrégation plaquettaire.

Plus récemment, une méthode immunoenzymatique de détection des anticorps anti héparine-PF4 a été mise au point.

Ces deux méthodes nous ont servi à réaliser le travail de la partie personnelle: nous en reparlerons donc à ce moment là.

D'autres méthodes existent mais restent peu usitées:

-Mesure de la libération de sérotonine radiomarquée.

Le principe de ce test est que les anticorps d'un sérum malade vont provoquer une activation et une sécrétion de  $^{14}\text{C}$ .sérotonine par les plaquettes marquées lorsqu'ils sont incubés ensemble.(8)

Ce test serait la méthode de référence, il est plus sensible et plus spécifique que les précédents mais difficilement réalisable en pratique courante.

-Mesure du taux des immunoglobulines G associées aux plaquettes des malades en présence d'héparine.

Ce test est très peu spécifique.(12)

## CHAPITRE II

TRAVAIL DE RECHERCHE PERSONNEL:  
COMPARAISON DE DEUX METHODES DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

\*\*\*\*\*

## I. Matériel et méthodes

- I.1. Patients
- I.2. Témoins

## II. Le prélèvement

## III. Méthodes

- III.1. Agrégation plaquettaire par la méthode photométrique de Born
- III.2. Recherche des anticorps anti PF4-héparine par la méthode immunoenzymatique type Elisa

## IV. Résultats

- IV.1. Résultats des témoins
- IV.2. Résultats des patients
  - IV.2.1. Tableau récapitulatif
  - IV.2.2. Analyse

## V. Discussion

- V.1. Des techniques
  - V.1.1. Agrégation plaquettaire par méthode photométrique de Born
  - V.1.2. Méthode immunoenzymatique
- V.2. Discussion des résultats
  - V.2.1. Généralités
  - V.2.2. Analyse des dossiers par groupe

\*\*\*\*\*

## I. MATERIEL ET METHODES.

### I.1. Patients.

De Décembre 94 à Mai 96, nous avons étudié au Laboratoire d'Hématologie du CHU de Limoges, dix-huit patients hospitalisés suspects de TIH. Ces patients provenaient de plusieurs services.

#### Critères d'inclusion dans l'étude:

- Le tableau clinique pouvait être évocateur ou non d'une TIH.
- Sur les dix-huit patients, trois ont présenté une thrombose. On peut noter l'absence de syndrome hémorragique.
- Le contexte chronologique devait être celui d'une TIH de type II
  - La thrombopénie devait être isolée.
  - Aucun autre traitement à risque thrombopéniant ne devait être associé à l'héparine.

### I.2. Témoins.

Le plasma de vingt-six témoins non thrombopéniques et ne recevant aucun traitement héparinique a été recueilli comme témoins négatifs de TIH, pour le test immunoenzymatique. Ces plasmas témoins provenaient de sujets pour lesquels étaient prescrits des examens d'hémostase.

## II. LE PRELEVEMENT.

\* Le prélèvement pratiqué après arrêt de l'héparine et après la remontée des plaquettes est constitué de trois tubes citratés de 5ml et d'un tube recueilli sans anticoagulant pour l'obtention de sérum.

\* Traitement du prélèvement.

- Les tubes citratés ont été utilisés pour le test d'agrégation plaquettaire pratiqué sur plaquettes autologues (ceci nécessitait un taux de plaquettes au minimum à  $100.000 / \text{mm}^3$  ).

Les tubes sont centrifugés à 800 tours par minute pendant dix minutes pour l'obtention de Plasma Riche en Plaquettes (PRP).

Après décantation du PRP, une nouvelle centrifugation à 4000 tours par minute permet l'obtention de Plasma Déplaqueté (PDP).

- Du sérum et du PDP ont été stockés à  $-20^{\circ}\text{C}$ , pour pratiquer le test immunoenzymatique. Ils ont été décongelés quinze minutes à  $37^{\circ}\text{C}$ , juste avant leur utilisation.

## III. METHODES.

### III.1. Agrégation plaquettaire par la méthode photométrique de Born.

\* Principe.

La technique de Born consiste à enregistrer les variations de densité optique (DO) dues à l'agrégation des plaquettes d'un PRP, induite par un agent agrégant.

L'agrégation plaquettaire est provoquée ici par les anticorps présents dans le plasma du malade en présence d'héparine.

\* Réalisation.

- Après étalonnage de l'appareil réalisé avec le PDP ( DO = 0 ) et le PRP ( DO = 100 ), le test est réalisé à 37°C en agitation continue avec 0,5 ml de PRP du patient ajusté à 250.000 plaquettes / mm<sup>3</sup> en PDP et 0,1 ml de solution d'héparine ajouté au temps 0.

Les courbes sont enregistrées en continu pendant trente minutes à l'aide d'un enregistreur couplé à l'agrégomètre. Ce temps relativement long favorise la réaction antigène-anticorps.

- Plusieurs concentrations d'héparine sont utilisées:

.HNF = Héparine Choay à 25.000 UI / 5 ml.

Après dilutions en sérum physiologique, les trois concentrations finales utilisées sont:

1,8 UI / ml; 0,9 UI / ml; et 0,45 UI / ml.

.HBPM: Les concentrations finales utilisées sont 5 et 10 UI anti-Xa / ml, à partir des trois héparines: Fragmine, Fraxiparine et Lovenox diluées en sérum physiologique.

- Un témoin négatif est réalisé à l'aide de sérum physiologique en remplacement de la solution d'héparine.

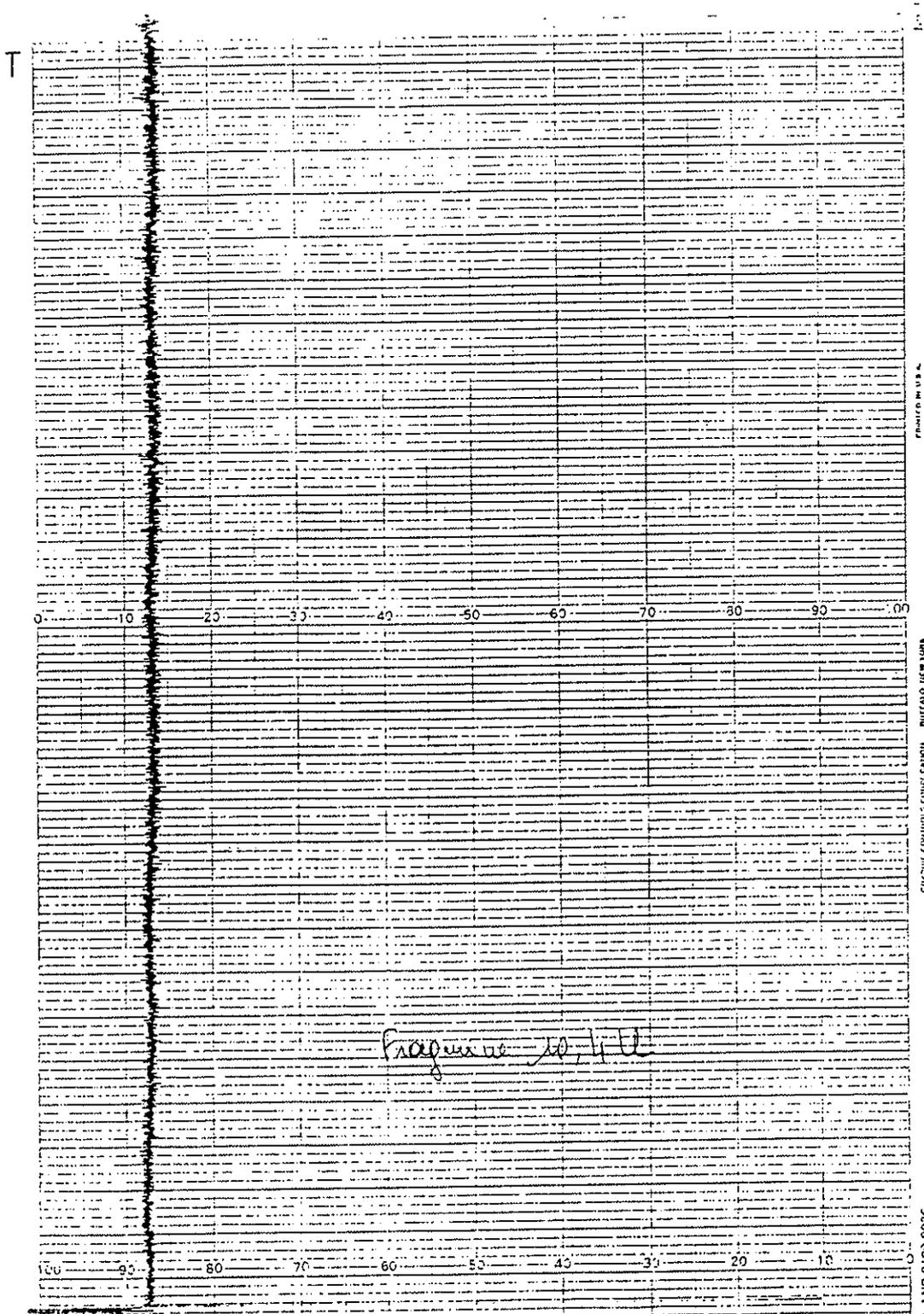
\* Interprétation.

. Si aucune réaction ne se produit, le tracé de la variation des DO reste plat: on en déduit que le plasma ne contient pas d'anticorps.

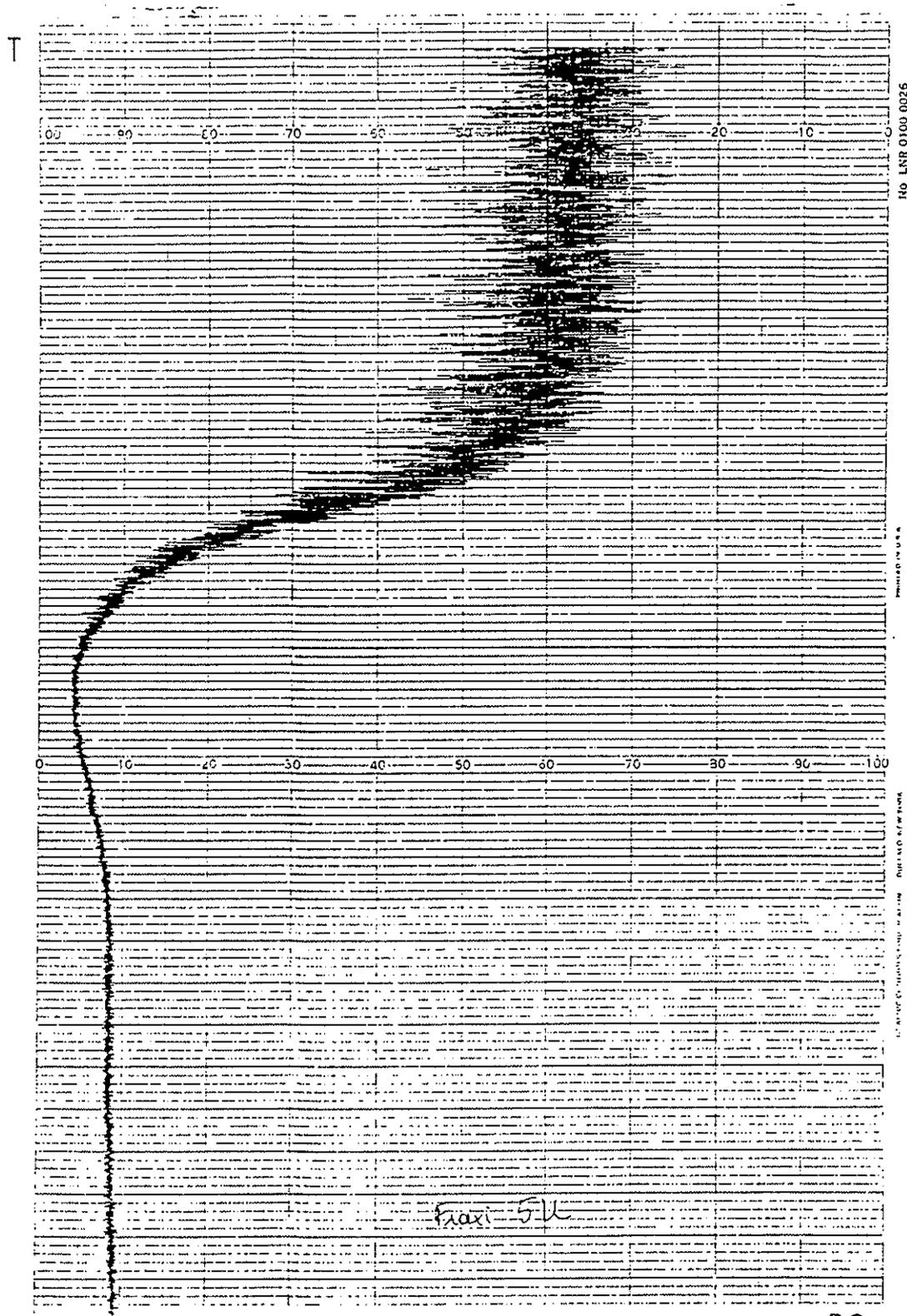
. Si une agrégation se produit, le tracé de la variation des DO s'élève en courbe: on en déduit que le plasma contient des anticorps.

Exemples des courbes obtenues:

Test négatif:



Test positif:



DO

### III.2. Recherche des anticorps anti PF4-héparine par la méthode immunoenzymatique type Elisa.

#### \* Principe.

Une plaque micro-Elisa est sensibilisée par un mélange stoechiométrique héparine-PF4: rapport permettant la formation de complexes macromoléculaires.

Après addition d'un plasma ou sérum, les anticorps anti-héparine-PF4 éventuellement présents peuvent se lier aux complexes fixés sur la microplaque.

Après incubation et lavage, des immunoglobulines de chèvre anti-Ig G, A, M humaines couplées à la peroxydase (= immunoconjugué) sont ajoutées et se lient aux anticorps fixés.

L'activité enzymatique est révélée par son action sur le substrat Ortho-Phénylène-Diamine (O.P.D) en présence de peroxyde d'urée: il se développe une coloration jaune. La densité optique de chaque puits de la plaque est mesurée par le lecteur à 492 nm.

Les résultats sont donc interprétés en fonction de cette DO:

Les plasmas normaux donnent habituellement une DO de 0,10 +/- 0,05; les plasmas de patients ayant développé une TIH génèrent une DO qui peut aller de 0,5 à des valeurs supérieures à 2,00.

Trois zones de résultats sont alors distinguées:

Zone normale :  $DO \leq 0,25$

Zone douteuse :  $0,25 < DO \leq 0,50$

Zone positive :  $0,50 < DO$

#### \* Réalisation.

Nous nous sommes servis des kits échantillons " Asserachrom HPIA" donnés par le laboratoire Diagnostica Stago.

HPIA= heparin induced platelet activation.

- Préparation des échantillons.

Les échantillons à tester sont dilués en tampon de dilution au 1/101 à raison de 0,5 µl de plasma pour 0,5 ml de tampon.

Ce tampon contient 10% de sérum de chèvre.

Un contrôle positif et un contrôle négatif sont fournis dans le kit ( ils sont à reconstituer extemporannément avec un ml de tampon de dilution.)

Le contrôle négatif doit donner à 20°C une DO inférieure ou égale à 0,25 et le contrôle positif une DO supérieure ou égale à 1,2; pour chaque lot la valeur exacte est indiquée sur la papillon inclu dans le coffret. La lecture de la plaque ne sera donc validée que si les valeurs trouvées pour les contrôles correspondent bien à celles indiquées dans le kit.

- Fixation des anticorps.

.On introduit dans les cupules précoatées 200µl de la dilution d'échantillon (plasma ou sérum à tester). Les contrôles positifs et négatifs sont également déposés dans deux puits. Un puits contenant du tampon sert de blanc.

Chaque échantillon est testé en double exemplaires:seules les réponses sensiblement identiques seront validées.

Le kit étant constitué de barrettes sécables, nous avons pu tester les sérums ou plasmas de treize patients en une séance.

.La réaction de fixation des anticorps se produit pendant un temps d'incubation de une heure, à l'abri de la lumière et à une température ambiante de 18 à 25° C.

- Fixation de l'immunoconjugué.

.On lave toute les cupules cinq fois avec 300 µl de solution de lavage.

.Immédiatement après on ajoute 200 µl de l'immunoconjugué par cupule.( Ce réactif présenté lyophilisé est reconstitué extemporannément avec quatre ml de tampon de dilution par flacon).

.On laisse incuber une heure dans les mêmes conditions que précédemment.

- Développement de la coloration.

.On lave toutes les cupules cinq fois avec 300 µl de solution de lavage.

.Immédiatement après on ajoute par cupule 200 µl de substrat OPD/Péroxyde d'urée.Ces deux réactifs se présentent sous forme de comprimés.(La solution est à préparer extemporannément en introduisant un comprimé de chaque dans quatre ml d'eau distillée)

.L'incubation se fait à la lumière pendant exactement cinq minutes, décomptées au chronomètre, en remplissant les rangées de la plaque Elisa les unes après les autres.

.On stoppe la réaction avec 50 µl d'acide chlorhydrique N (ou acide sulfurique 3M).

- Lecture des DO.

La lecture des DO à 492 nm est faite après dix minutes d'attente nécessaires à la stabilisation de la coloration à l'aide d'un lecteur de plaques Elisa. L'ordinateur imprime les DO de la plaque entière.



IV. RESULTATS.IV.1. Résultats des témoins.

Les vingt-six plasmas témoins ont tous été négatifs.

IV.2. Résultats des patients.IV.2.1. Tableau récapitulatif.

(Les valeurs figurants entre parenthèses sont les valeurs moyennes des DO obtenues).

+ = test positif

- = test négatif

d = douteux

Nom du malade	Agrégation		Asserachrom HPIA	
	HNF	HBPM	plasma	sérum
groupe 1				
Mme L.. M.Jo	+	-	+ (0,718)	+ (0,763)
Mme H.. Nic 17/07/95	+	-	+ (1,650)	+ (1,853)
Mme F.. Ali	+	+	+ (0,709)	+ (0,931)
Mme P.. Sol	+	-	+ (2,834)	
Mr P.. Sru	+	+		+ (2,003)
Mme S.. A.Ma	+	+	d (0,325)	d (0,380)

groupe 2				
Mr L.. Rob	-	-	+ (2,240)	+ (2,631)
Mme D.. M.Ce	-	-	+ (0,899)	+ (0,939)
Mme H.. Nic 24/08/95	-	-	+ (0,801)	+ (0,829)
Mr P.. Ant	-	-	+ (0,571)	+ (0,566)
Mme D.. Ali	-	-	+ (0,511)	+ (0,514)
groupe 3				
Mr F.. And	-	-	d (0,464)	d (0,432)
Mr B.. Ars	-	-	d (0,321)	d (0,313)
Mr C.. Jac	-	-	d (0,361)	d (0,341)
Mme V.. Jea	-	-	d (0,452)	d (0,430)
Mr P.. Jul	-	-	d (0,357)	d (0,423)
groupe 4				
Mr A.. Thi	-	-		- (0,173)
Mme A.. Cat	-	-	- (0,217)	- (0,197)

#### IV.2.2 .Analyse.

##### \* Résultats d'agrégation.

Sur notre panel de dix-huit patients inclus:

- 6 patients ont eu des tests d'agrégation plaquettaire positifs
- 12 patients ont eu des tests d'agrégation plaquettaire négatifs.

- Sur les 6 résultats positifs:

- . 3 étaient négatifs avec les HBPM.
- . 3 étaient positifs avec les HBPM.

Il n'est apparu aucune dissociation entre les trois HBPM testées.

- Les 12 résultats négatifs avec l'HNF étaient également négatifs avec les HBPM.

##### \* Résultats du test Elisa.

- 10 patients ont eu des tests Elisa positifs.

Les résultats obtenus avec le plasma et avec le sérum ont toujours été identiques.

- 6 patients ont eu des tests Elisa douteux.
- 2 patients ont eu des tests Elisa négatifs.

##### \* Résultats combinés.

- Sur les 6 patients ayant eu des tests d'agrégation plaquettaire positifs:

- . 5 ont également eu des tests Elisa positifs.
- . 1 seul a eu un test Elisa douteux.
- . Aucun n'a eu de test Elisa négatif.

- Sur les 12 résultats négatifs en agrégation plaquettaire:

- . 5 étaient positifs en test Elisa.
- . 5 étaient douteux.
- . 2 étaient négatifs.

## V. DISCUSSION.

### V.1. Des techniques.

#### V.1.1. Agrégation plaquettaire par méthode photométrique de BORN.

Cette méthode est celle qui est actuellement pratiquée par la plupart des laboratoires.(26)

Elle présente cependant certaines difficultés, d'une part de réalisation technique et d'autre part d'interprétation des résultats, auxquelles nous avons également été confrontés.

#### \* Problèmes de réalisation.

##### - *Plaquettes.*

. Ce test peut être pratiqué avec des plaquettes contrôles de plusieurs sujets témoins. Dans ce cas on n'est pas obligé d'attendre la remontée totale des plaquettes. Par contre, l'obtention des plaquettes témoins est une contrainte majeure. Les auteurs préconisent entre cinq et dix témoins, à cause de la variation de la sensibilité des plaquettes aux anticorps héparine-dépendants.

Mais en pratique le nombre des témoins utilisés lors de chaque test est le plus souvent (75%) inférieur ou égal à trois.(26)

Lorsque le test est négatif et s'il existe une forte suspicion de TIH, il est conseillé de le répéter dans le temps (d'après certains, trois jours de suite), mais ceci est difficilement réalisable. Il semble en effet que lors de la phase aiguë, les

anticorps fixés sur les plaquettes soient moins facilement détectables dans le plasma.

. Si après arrêt de l'héparine, le nombre de plaquettes est suffisant (supérieur à  $100000/\text{mm}^3$ ), le test d'agrégation peut être réalisé avec le plasma riche en plaquettes du malade, ce qui permet d'augmenter la sensibilité diagnostique.(18)

C'est la méthode que nous avons choisie. Nous avons donc été confrontés à l'attente de la remontée des plaquettes, ce qui n'est pas favorable au diagnostic d'urgence que réclamerait cette pathologie.

- *Héparine.*

Les concentrations d'héparine utilisées sont variables. Pourtant cette concentration a toute son importance car si elle est trop faible, les complexes macromoléculaires ne peuvent se former, si elle est trop élevée, elle peut dissoudre ces mêmes complexes. C'est pourquoi, il est souhaitable de réaliser un même test avec plusieurs concentrations d'héparine. La meilleure concentration serait de l'ordre de 0,5 UI/ml.

Pour l'HNFet les HBPM, nous avons donc choisi trois concentrations différentes pour avoir une meilleure sensibilité.

- *Temps.*

Ce test est long et fastidieux. Pour une courbe, il faut au moins trente minutes d'enregistrement. Si l'on veut le rendre le plus efficace possible en testant plusieurs héparines et à plusieurs concentrations, ce temps est facilement multiplié par cinq ou six, sans compter les préparations.

Vu qu'il n'existe pas de consensus, les modalités de réalisation du test sont disparates. Les concentrations plaquettaires et les rapports de volume plasma testé / suspension plaquettaire témoin sont variables. Le nombre de donneurs de plaquettes et les concentrations d'héparine utilisées diffèrent parfois d'un laboratoire à l'autre.(26)

\* Problèmes d'interprétation.

Il en découle que ce test est peu sensible. Un résultat négatif n'exclut donc pas le diagnostic de TIH.

Les patients sans IgG (avec des IgA ou IgM) ont fréquemment des tests d'agrégation plaquettaires négatifs.(3)

L'estimation de cette sensibilité est variable selon les études publiées mais apparaît souvent médiocre (36% pour certains).(11)

Qualité du test.

En revanche la spécificité du test d'agrégation plaquettaire apparaît toujours bonne. Un résultat positif confirme une TIH. Pour de nombreux auteurs cette spécificité serait proche de 99% . Elle pourrait être augmentée par l'utilisation supplémentaire d'une concentration d'héparine supérieure à 2 UI/ml qui inhibe l'agrégation plaquettaire.(12) (18)

**V.1.2.Méthode immunoenzymatique HPIA.**

Ce test étant à l'état d'essais, et ayant encore peu fait l'objet d'études, la littérature offre peu de renseignements statistiques et critiques.

Grâce à notre étude, nous avons pu dégager certains avantages et inconvénients de ce test.

\* Tout comme le test d'agrégation plaquettaire, la nécessité de l'arrêt d'au moins vingt-quatre heures de l'héparine, pour libérer les anticorps, est une contrainte importante.

\* Nous avons pu remarquer que les modalités opératoires étaient parfaitement définies et qu'il ne pouvait pas y avoir d'ambiguïté sur le protocole de réalisation (contrairement à l'agrégation plaquettaire).

Dans ces conditions les résultats obtenus étaient parfaitement reproductibles. Plusieurs échantillons ont été testés à plusieurs reprises, des jours différents, parfois avec des kits différents et les résultats ont toujours été identiques, ainsi que ceux du sérum avec ceux du plasma.

Ceci prouve la fiabilité et la reproductibilité du test.

\* En ce qui concerne sa sensibilité, elle apparaît meilleure que celle du test d'agrégation plaquettaire.

Nous avons obtenu beaucoup plus de résultats positifs avec cette méthode de type Elisa. Un des facteurs favorisant est que la réactivité est la même quel que soit l'isotype de l'immunoglobuline puisque le conjugué est préparé avec un pool d'anticorps monovalent anti IgG, anti IgA et anti IgM, ce qui permet un dosage homogène des isotypes IgG, IgA et IgM.

Cette méthode est également moins influencée par les médicaments agissant sur les plaquettes comme les antiagrégants plaquettaires qui peuvent donner de faux négatifs en test d'agrégation.(12) (18)

La littérature confirme que des anticorps anti-PF4 sont observés chez la plupart des patients ayant développé une TIIH.

Cependant cette technique ne peut pas permettre de détecter des anticorps héparine-dépendants qui auraient d'autres cibles antigéniques que le PF4, alors que dans la méthode d'agrégation tous les antigènes peuvent être pris en compte. Mais ce cas étant rare, la perte en sensibilité est faible.

Un de nos cas positif en agrégation et douteux en test Elisa (Mme S...A.M.) peut corroborer ce fait.

\* La spécificité de cette méthode apparaît très bonne.

Nous n'avons déceler aucun faux positif chez nos témoins négatifs. D'autres études ont également mis en évidence l'absence de révélation d'anticorps chez des sujets normaux ou ayant une thrombopénie d'autre origine. (12)

Le test d'agrégation plaquettaire avec les plaquettes autologues gagnerait en spécificité dans la mesure où la réactivité des plaquettes du patient entre en jeu. En effet la méthode immunoenzymatique peut révéler la présence d'anticorps mais si les plaquettes du patient n'y sont pas sensibles il n'y a pas TIH. Ce cas restant rare, et malgré tout un facteur de risque, la spécificité du test est largement satisfaisante.

\* Malgré tout, cette méthode nous laisse des problèmes d'interprétation quant aux résultats qualifiés de "douteux".

La densité optique n'est pas assez forte pour affirmer la présence d'anticorps mais trop forte pour la rejeter.

Ce résultat rendu tel quel au clinicien le satisfait peu. Il s'agit cependant de mise en garde devant influencer la conduite à tenir.

\* Le problème majeur de ce test réside dans sa réalisation au coup par coup. Nous sommes obligés d'ouvrir seize puits Elisa à la

fois. Si le temps de réalisation est à peu près le même que celui nécessaire au test d'agrégation (trois à quatre heures), le coût ramené à un seul test serait beaucoup plus élevé.

La solution serait de pouvoir disposer de tests unitaires.

## V.2. Discussion des résultats.

### V.2.1. Généralités.

Nous pouvons individualiser d'emblée quatre groupes à l'intérieur desquels les résultats diagnostiques ont été similaires. (Cf. tableau de résultats.)

N° 1: Le groupe des patients avec un test d'agrégation plaquettaire positif, qui ont également un test immunoenzymatique positif (sauf un cas douteux).

N° 2: Le groupe des patients avec un résultat d'agrégation négatif mais un résultat Elisa positif.

N° 3: Le groupe des patients avec un résultat d'agrégation négatif mais un résultat Elisa douteux.

N° 4: Le groupe des patients avec les deux tests négatifs.

Cela nous inspire immédiatement une comparaison des deux tests quant à leur interprétation.

D'après la discussion des techniques, compte tenu des sensibilité et spécificité de chaque type de tests, nous pouvons conclure avec certitude:

- . pour le test d'agrégation: lorsqu'il est positif.
- . pour le test immunoenzymatique lorsqu'il est positif ou négatif (pas douteux).

Dans ces conditions d'après nos résultats:

. avec le test d'agrégation seulement, on peut avoir un diagnostic de certitude pour six cas sur dix-huit (le tiers des cas ):six patients ont fait une TIH (groupe 1).

. avec le test Elisa seulement, on peut avoir un diagnostic de certitude pour douze cas sur dix-huit (les deux tiers des cas):dix patients ont fait une TIH et deux patients n'ont pas fait de TIH.

. avec la combinaison des deux tests on peut avoir un diagnostic de certitude pour treize cas.

Ces chiffres semblent donner un large avantage à la méthode immunoenzymatique d'autant plus que dans cette dernière méthode les résultats qualifiés de douteux sont quand même des mises en garde, tandis qu'un résultat négatif en agrégation plaquettaire ne donne pas plus de renseignements qu'une absence de résultat.

Héparines:

En ce qui concerne le type d'héparine responsable de la survenue de la TIH, il s'agit toujours d'HNF (dont une calcique) sauf dans deux cas que nous développerons où l'on ne peut attribuer la TIH à l'une ou l'autre des héparines. De plus, beaucoup de nos patients ayant des antécédants chirurgicaux, ont été préalablement sensibilisés par différentes héparines, ce qui ne nous permet pas de conclure sur la nature de l'héparine responsable de l'induction de la thrombopénie.

### V.2.2. Analyse des dossiers par groupes.

#### GROUPE 1: Test d'agrégation plaquettaire positif.

Ce groupe est particulièrement intéressant car il contient les tableaux cliniques les plus évocateurs de la TIH type II de notre panel de malades.

En effet trois de ces six patients ont été victimes de thromboses induites par leur TIH.

Nous pouvons mettre en avant ces dossiers:

#### \* Mme L...M.Jos.

Cette patiente âgée de 67 ans est admise au CHU de Limoges le 13/11/94 pour thrombose veineuse profonde et thrombopénie: plaquettes à 19.000/mm<sup>3</sup> le 11/11, à 41.000 le 13/11 à son arrivée. Elle a subi une intervention chirurgicale pour PTH le 2/11/94 et a reçu de la calciparine (0,3 ml trois fois par jour) en post-opératoire.

Le 3/11/94 les plaquettes sont à 208.000.

Le 10/11 elle présente une phlébite du membre inférieur gauche, les examens complémentaires confirment une thrombose complète du trépied fémoral et de la veine iliaque externe gauche.

Un traitement par héparine à la seringue électrique est alors instauré.

Devant la thrombopénie à 19.000 le 11/11, l'héparine est arrêtée et la patiente est mise sous Tromexane.

L'évolution des numérations plaquettaires est compatible avec une TIH puisque les plaquettes sont revenues à un taux normal en cinq jours.

13/11	41.000
14/11	80.000
15/11	161.000
16/11	232.000

Les tests biologiques sont positifs. Les tests d'agrégation plaquettaire ne mettent pas en évidence de réactivité croisée avec les HBPM.

Le tableau clinique et biologique est donc ici complet, et nous conduit à une conséquence redoutable : la mauvaise évolution des signes cliniques. En effet, le 06/01/95 Madame L... a dû être amputée des cinq orteils du pied gauche.

\* Mme F...Ali.

Cette patiente de 97 ans, est hospitalisée le 29/11/95 pour ischémie du membre inférieur gauche.

Elle a de nombreux antécédents chirurgicaux (Hystérectomie, cholecystectomie, néoplasie thyroïdienne) et cardiovasculaire.

Elle subit le 29/11 une embolectomie sous anesthésie locale et une héparinothérapie par Fragmine est initiée (2500UI/jour).

Cette patiente présente des récurrences successives le 01 et le 04/12.

Du 02 au 05/12 elle reçoit alors de l'héparine à la seringue électrique (SE).

Puis le 06/12 la Fragmine est à nouveau utilisée (5000UI/jour).

Ses numérations plaquettaires sont jusque-là normales:

29/11	259.000
01/12	297.000
04/12	222.000

puis le 09/12 63.000

Le 11/12, la Fragmine est arrêtée et remplacée par du Sintron.

Les numérations plaquettaires remontent un jour après et se stabilisent très progressivement en environ deux semaines:

12/12	81.000	25/12	189.000
15/12	94.000	29/12	229.000
16/12	104.000	03/01	263.000
21/12	151.000	10/01	290.000

Les tests d'agrégation plaquettaire révèlent une réactivité croisée entre HNF et HBPM.

La chronologie ne permet pas d'incriminer la Fragmine ou l'HNF d'avoir induit la thrombopénie.

L'évolution clinique a été défavorable et cette patiente a dû subir une amputation de la jambe gauche le 19/01.

\* Mme S...A.Mar

Cette patiente âgée de 54 ans avec de nombreux antécédents en chirurgie carcinologique, est opérée le 19/04/96 d'une tumeur vésicale.

Elle reçoit en post-opératoire de l'héparine(SE) le 19,20 et 21/04  
Du 21 au 30/04, elle reçoit Fraxiparine (0,3 ml/jour) et sort de l'hôpital avec ce traitement.

Les numérations plaquettaires sont normales jusqu'au 25/04

17/04	286.000
20/04	173.000
22/04	209.000
25/04	281.000

Le 04/05, Mme S...est de nouveau hospitalisée pour douleurs dans le mollet gauche avec suspicion de phlébite. Les examens montrent une thrombophlébite de la veine poplitée et fémorale gauche.

Elle reçoit alors le 04 et le 05/05 10000UI de Fragmine deux fois par jour.

Les numérations sont:

04/05	86.000
05/05	63.000

La Fragmine est ensuite arrêtée, et le Sintron est introduit.

Les numérations sont:

06/05	54.000
07/05	72.000
09/05	126.000
10/05	148.000
15/05	354.000

Les signes de phlébite disparaissent sans complication.

Le tableau clinique et biologique est classique et sans ambiguïté.

Les tests d'agrégation plaquettaire révèlent une réactivité croisée entre HNF et HBPM.

On ne peut pas savoir quelle héparine a initié la TIH.

Le cas de cette patiente est une singularité au niveau du diagnostic biologique. En effet, son test Elisa ressort douteux. La plupart des anticorps mis en cause ne sont donc peut-être pas dépendant du PF4 mais dirigés contre d'autres cibles antigéniques. Ce phénomène est rare, mais dans ce cas, le test d'agrégation plaquettaire est plus avantageux.

Conclusion du groupe 1.

Les autres cas sont semblables mais sans manifestations cliniques.

La similitude des tests d'agrégation et Elisa montrent que ces patients ont à la fois des antigènes classiques (dépendant du PF4) et des IgG.

Deux personnes sur trois ayant eu des complications cliniques présentaient des réactions croisées HNF/HBPM, ce qui confirme bien les réserves à utiliser une HBPM comme alternative, dans les TIH avec thromboses. Nous soulignons également la difficulté d'arrêter l'héparine chez un malade présentant des thromboses.

Ces réactions croisées ont été mis en évidence chez trois malades sur six; cet échantillon est un peu trop réduit pour en retirer des orientations quant à l'utilisation systématique d'HBPM en traitement des TIH par HNF.

On ne peut pas non plus faire de lien entre la gravité de la TIH et la présence d'anticorps à réactions croisées.

GRUPE 2: Test d'agrégation plaquettaire négatif et test Elisa positif.

La dissociation des résultats de ces deux tests montrent que de nombreux cas de positivité sont inaccessibles au test d'agrégation.

Il peut déjà s'agir des patients qui ont des anticorps de type IgA ou IgM, difficilement mis en évidence par le test d'agrégation.

Il peut également être question du taux d'anticorps présents dans le plasma, qui exigerait d'être plus élevé pour être détecté en agrégation.

Pour illustrer cette éventualité, nous pouvons nous arrêter sur le dossier d'une patiente:

\* Mme H...Nic.

Cette patiente figure dans le groupe 1 et 2.

Le 17/07/95, un test d'agrégation plaquettaire est réalisé devant un tableau de TIH: le test est positif.

Le 24/08/95, un nouveau test d'agrégation est réalisé en vue d'une intervention chirurgicale: le test est alors négatif.

Les deux tests Elisa des jours correspondant sont positifs, le premier avec une DO largement supérieure au deuxième.

Bien qu'il n'y ait dans nos expériences aucun lien entre la positivité du test d'agrégation et la valeur des DO, cette baisse de DO pour une même personne reflète peut-être une baisse du taux d'anticorps.

Nous remarquons donc que le test d'agrégation est probablement très dépendant du taux d'anticorps. Il aurait peut-être été nécessaire d'utiliser des concentrations plus faibles d'héparine pour être dans un rapport antigène/anticorps permettant la réaction d'agrégation.

Il semble que le test Elisa soit un marqueur plus sensible de la persistance dans le temps des anticorps.

Cet exemple nous donne cependant une indication quant à la cinétique de décroissance des anticorps, elle pourrait être assez rapide dès les premières semaines.

Au point de vue clinique, aucune personne de ce groupe n'a présenté de manifestation de sa TIH: aucune thrombose, aucune hémorragie. On pourrait alors penser que lorsque le test

d'agrégation est négatif, il y a une réduction de risque de lourde symptomatologie, même s'il y a vraiment une TIH.

Même si en général, les tableaux biologiques étaient assez caractéristiques, nous pouvons déjà remarquer dans ce groupe des dossiers dont le diagnostic biologique a bien aidé à la conclusion de TIH.

Cela peut être le cas lorsque d'autres maladies interfèrent.

\* C'est le cas de Mr.P...Ant.

Cet homme, atteint de lupus est hospitalisé pour phlébite dans un contexte thromboembolique récidivant, probablement lié à sa pathologie autoimmune.

De plus ce patient prend irrégulièrement le traitement par Préviscan instauré au long cours.

Il arrive le 09/11 sous héparine.

Ses numérations plaquettaires sont déjà légèrement perturbées, mais une thrombopénie modérée peut accompagner classiquement une maladie lupique.

09/11	154.000
10/11	135.000
13/11	176.000
20/11	134.000
28/11	98.000
30/11	89.000

On peut dire que la thrombopénie réelle apparaît au moins à vingt jours d'héparinothérapie, ce qui est moins classique comme délai d'apparition, mais possible d'autant plus que ce patient a eu des traitements antérieurs par héparine.

L'héparine est arrêtée le 30/11. La Fragmine est instaurée.

La remontée des plaquettes est lente.

02/12	62.000
03/12	84.000
04/12	96.000
06/12	118.000
11/12	275.000

Le tableau est donc un peu atypique.

A postériori nous avons su que le patient avait pu bénéficier de longs traitements avec des HBPM sans thrombopénie depuis cet épisode.

Le test Elisa montre que sa thrombopénie est bien induite par l'héparine. La remontée des plaquettes sous HBPM serait peut-être en faveur d'une absence de réaction croisée avec l'HNF dans ce cas.

\* Une autre patiente Mme D...Ali. a également pu bénéficier d'un traitement de presque deux mois d'HBPM à la suite d'une TIH sous HNF.

Ces exemples montrent bien l'avantage des HBPM dans certaines circonstances.

Cela nous amène à émettre une critique à propos du test Elisa: il ne nous permet pas de prédire de la réactivité croisée des anticorps, étant donné que le test est conçu avec des complexes PF4-HNF. On devrait pouvoir tester en double chaque échantillon: remplir un puits sensibilisé avec l'HNF et un avec des HBPM. Cela amènerait éventuellement des renseignements supplémentaires.

GROUPE 3: Tests d'agrégation négatifs et Elisa douteux.

Dans ce groupe apparaissent les cas où l'on ne peut conclure d'aucune façon.

- Pour certains, nous avons été étonnés d'une telle réponse du test Elisa tant le tableau était évocateur.

C'est le cas de Mr F...And qui reçoit pour un infarctus du myocarde de l'héparine (SE) du 18/09/95 au 26/09/95.

L'évolution de sa numération plaquettaire est:

16/09	273.000
21/09	112.000
22/09	82.000
23/09	86.000
25/09	58.000
26/09	49.000

Un traitement par AVK est instauré le 27/09. La remontée des plaquettes est assez longue.

27/09	43.000
28/09	49.000
01/10	52.000
05/10	74.000
09/10	135.000

La réponse du test Elisa ne nous permet pas de conclure avec certitude à une TIH. Mais dans ce cas, la présomption est forte, d'autant plus que les valeurs de DO obtenues flirtent avec le seuil de positivité (0,464 et 0,432). Cela peut révéler la difficulté d'interpréter un résultat par rapport à des limites de

positivité autour desquelles la marge d'erreur est certainement plus importante.

Ce patient devra de toute façon être considéré comme sujet à risque.

- D'autres ont des tableaux biologiques plus complexes qui n'ont malheureusement pas été éclairés par le diagnostic biologique.

\* Il s'agit entre autres de patients subissant une intervention sous CEC. La TIH peut alors être concomitante avec celle due à la CEC; c'est alors la persistance de la thrombopénie qui peut attirer l'attention.

. Pour Mme V...Jea, il semble qu'une réelle TIH ait eu lieu bien que nous n'ayons pas mis clairement en évidence les anticorps:

Le tableau est:

héparinothérapie (SE) du 18/07 au 20/07/95 avec CEC le 18/07

numérations plaquettaires:

15/07	168.000		22/07	69.000
18/07	106.000	88.000	23/07	60.000
19/07	92.000		24/07	87.000
20/07	76.000		25/07	130.000
21/07	24.000			

. Pour Mr B...Ars, l'arrêt précoce de l'héparine a peut être changé l'évolution biologique et le résultat du diagnostic:

Ce patient subit une intervention sous CEC le 06/02, il reçoit de la Calciparine le 07, de la Fragmine le 08 puis l'héparine est arrêtée (remplacée par Préviscan).

Ces numérations plaquettaires sont:

02/02	197.000		10/02	105.000
06/02	96.000	58.000	11/02	165.000
07/02	101.000		13/02	188.000
08/02	75.000		15/02	202.000
09/02	79.000		19/02	257.000

Pour ces deux personnes (Mme V...Jea et Mr B...Ars ) ,la chute rapide de leurs plaquettes peut provenir de sensibilisations préalables par l'héparine, vu leurs antécédents chirurgicaux.

\* Des tableaux complexes apparaissent également lorsque l'héparinothérapie est brève.

Ainsi, Mr P...Jul a bénéficié d'un relais très précoce par les AVK par précaution, en raison peut-être d'anciens tableaux de TIH avec tests d'agrégation négatifs.

Le tableau est:

Fragmine administrée du 20 au 25/10 (5.000 UI/jour).

relais avec préviscan est mis en route dès le 21/10.

numérations plaquettaires:

10/10	450.000		25/10	229.000
12/10	442.000		26/10	264.000
21/10	386.000		03/11	372.000
24/10	319.000			

Nous remarquons une diminution de la numération plaquettaire (de presque la moitié) jusqu'au moment de l'arrêt de Fragmine. Ce signe peut présumer d'une éventuelle TIH si l'HBPM avait été continuée.

De manière générale nous pouvons simplement dire que le résultat douteux doit être pris en compte par le clinicien qui évaluera lui-même le rapport bénéfice/risque d'une éventuelle héparinothérapie ultérieure, avec par exemple une surveillance renforcée et un relais précoce par les AVK si nécessaire.

GRUPE 4: Les deux tests négatifs.

Pour deux de nos patients les tests avaient été prescrits alors qu'il ne s'agissait probablement pas de TIH à la vue de leur dossier clinique. Mais, comme nous l'avons déjà rencontré, les profils se compliquent et peuvent devenir un peu atypiques en cas de pathologie associée; le résultat du diagnostic biologique de TIH, même négatif, peut apporter un argument supplémentaire.

Exemple de Mr A...Thi

Ce patient âgé de 28 ans, présente un lupus découvert en 1993, associé à des thromboses récidivantes.

Il entre à l'hôpital le 22/01/96 sous Sintron.

On instaure une héparinothérapie avec Calciparine le 22/01 et elle est arrêtée le 28.

Les numérations plaquettaires sont:

23/01	213.000	30/01	117.000
26/01	232.000	31/01	159.000
28/01	122.000	01/02	243.000
29/01	127.000		

Nous remarquons que la thrombopénie n'est pas profonde, que la remontée des plaquettes est instable, mais que, en effet, il pouvait y avoir un doute.

Le diagnostic biologique semble confirmer que la thrombopénie modérée n'était pas due à la Calciparine et entrainait plus probablement dans le cadre de la maladie lupique.

L'autre cas (Mme A...Cat) est comparable.

### **Conclusion.**

L'héparinothérapie est un traitement qui a subi une grande évolution au cours de ces dernières années, tant les découvertes sur les propriétés structurales et pharmacologiques des héparines se sont multipliées. Les HBPM utilisées avec réserve lors de leur arrivée ont maintenant fait preuve de leurs avantages sur l'HNF dans de nombreuses indications. Elles occasionnent moins d'effets indésirables hémorragiques et thrombopéniques, en liaison avec leur faible activité anti-thrombinique. La recherche tend maintenant à développer des fractions moléculaires d'activité de plus en plus spécifique.

Les thrombopénies induites par l'héparine sont des complications encore difficiles à gérer. C'est pourquoi les efforts dans ce domaine doivent surtout être tournés vers la prévention, par une durée de traitement aussi brève que possible, relayé si nécessaire par les anticoagulants oraux, et par le respect de la surveillance plaquettaire telle qu'elle est préconisée.

Les méthodes de diagnostic biologique ne répondent aujourd'hui que partiellement aux attentes des cliniciens.

Nous avons pu montrer au long de notre travail de comparaison la supériorité du test immunoenzymatique par rapport à la méthode d'agrégation plaquettaire. Cependant, nous remarquons clairement qu'il subsiste certaines limites incompatibles avec un diagnostic biologique sûr et rapide.

Le premier problème, commun aux deux tests, est la nécessité de les réaliser après arrêt de l'héparine, donc après la décision d'une alternative thérapeutique, décision souvent difficile à prendre pour le clinicien devant un patient thrombopénique présentant éventuellement une thrombose et pour lequel un traitement anticoagulant est indispensable.

Le résultat du diagnostic biologique pourra alors au moins être d'une grande valeur présomptive pour une éventuelle nouvelle héparinothérapie, même s'il n'a pas une très grande importance pour la thrombopénie passée, déjà gérée.

Le test immunoenzymatique nous a donné plus de satisfactions que le test d'agrégation, il s'est montré plus sensible, plus reproductible dans le temps, et un peu plus facilement réalisable. Il pourrait être utilisé en pratique courante s'il était présenté en test unitaire.

Sa sensibilité pourrait peut-être être améliorée par la présence d'autres cibles antigéniques que le PF4. Il serait également intéressant d'avoir des renseignements sur l'éventuelle réactivité croisée avec les HBPM des anticorps; ceci pourrait être pris en compte dans les alternatives thérapeutiques.

BON A IMPRIMER N° 38

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

## RESUME

L'héparine est un anticoagulant injectable destiné au traitement et à la prévention de la maladie thromboembolique. Elle occupe donc une place centrale dans le domaine cardio-vasculaire et chirurgical.

On distingue deux types d'héparine: l'héparine non fractionnée et les héparines de bas poids moléculaire obtenues par fractionnement des premières.

Les indications respectives de chacune ont évolué au fur et à mesure que s'est développée leur connaissance.

De leurs propriétés physico-chimiques résulte la plupart de leurs activités pharmacologiques. Mais seule l'action principale anticoagulante est utilisée en thérapeutique. Son mécanisme passe par l'intermédiaire de l'antithrombine-III, régulateur physiologique de la coagulation, dont elle potentialise l'action inhibitrice.

Les modalités d'emploi de l'héparine sont maintenant bien définies, elles incluent une surveillance biologique du traitement afin de prévenir certains effets secondaires:

- le contrôle de l'hémostase permet de gérer le risque hémorragique ainsi que l'efficacité thérapeutique, notamment pour l'héparine non fractionnée.
- le contrôle des numérations plaquettaires est lui systématique devant le risque de thrombopénie induite par tous les types d'héparine.

Cette complication incombe à un processus immunoallergique. Sa mise en évidence précoce permet d'éviter par arrêt immédiat de l'héparine les complications cliniques surtout thrombotiques et parfois hémorragiques. Cependant les alternatives thérapeutiques étant aujourd'hui peu satisfaisantes, l'arrêt de toute héparinothérapie paraît une décision difficile à prendre pour un patient qui nécessite d'être anticoagulé.

Pour le clinicien, la conduite à tenir serait éclairée par un diagnostic biologique rapide et sûr encore absent aujourd'hui.

Nous nous sommes intéressés à une nouvelle méthode basée sur une technique immunoenzymatique de type Elisa utilisant le facteur plaquettaire 4. Une étude comparative avec le test d'agrégation plaquettaire a été réalisée. Les principales caractéristiques que nous avons pu en dégager constituent des indications précieuses pouvant favoriser son éventuelle utilisation ultérieure en pratique courante.

### Mots-clés:

Héparine. Thrombose. Plaquette. Thrombopénie.  
Facteur plaquettaire 4. Agrégation plaquettaire. Elisa.