

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri  
FACULTE DE MEDECINE  
TIZI OUZOU

Département de Pharmacie  
N° D'ordre :

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري  
كلية الطب  
تيزي وزو

٢٠٢٤/٠٦/٢٣

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté sous forme d'article et soutenu publiquement

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Le : 23/06/2024

Sous le Thème

**Les perturbations de la fonction plaquettaire liée à la prise de l'ibuprofen Et du diclofenac**

Réalisé par :

CHERGUI Maya

REGUIEG Rala

CHAID Amira

BELKESSA Dalyna

Encadrées par :

Membres du jury :

DR. N.SI SMAIL

MAHU

Faculté de Médecine UMMTO

Présidente de jury

DR.S.CHERIFI

MA

Faculté de Médecine UMMTO

Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE :2023 /2024

## Résumé

Les plaquettes jouent un rôle crucial dans l'hémostase primaire en formant le clou plaquettaire. L'agrégométrie permet d'évaluer leur fonction in vitro et de repérer des perturbations, en particulier celles causées par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui inhibent la cyclo-oxygénase. L'objectif de cette étude est d'analyser l'impact de l'ibuprofène (600 mg) et du diclofénac (100 mg) sur la formation de plaquettes chez 30 volontaires sains, répartis en deux groupes. Avant et après la prise des médicaments, des tests d'agrégation ont été effectués avec divers agonistes. Les résultats ont démontré que l'ibuprofène et le diclofénac ont une influence significative sur l'agrégation plaquettaire, avec 19 anomalies au total pour l'ibuprofène et 27 anomalies pour le diclofénac, en particulier avec les agonistes : acide arachidonique, ADP et épinéphrine. Selon cette étude, il a été prouvé qu'une seule dose de diclofénac ou l'ibuprofène est suffisante pour perturber l'agrégation plaquettaire, ce qui suggère que sur une période prolongée, les effets seraient encore plus prononcés.

**Mots clés :** fonction plaquettaire, agrégométrie, cyclo-oxygénase, agonistes ,diclofénac , ibuprofène.

## Abstract

The platelets play a crucial role in primary hemostasis by forming the platelet nail. Aggregometry is used to evaluate their function in vitro and to identify disturbances, those caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) that inhibit cyclo-oxygenase. The aim of this study is to analyse the impact of ibuprofen (600 mg) and diclofenac (100 mg) on platelet formation in 30 healthy volunteers, divided into two groups. Before and after taking the medication, aggregation tests were performed with various agonists. The results showed that ibuprofen and diclofenac have a significant influence on thrombocyte aggregation, with a total of 19 abnormalities for ibuprofen and 27 for diclofenac, with the agonists: arachidonic acid, ADP and epinephrine. According to this study, it has been shown that a single dose of diclofenac or ibuprofen is sufficient to disrupt thrombocyte aggregation, suggesting that over a prolonged period, the effects would be even more pronounced.

**Keywords:** Platelet Function, aggregometry, cyclooxygenase, agonists, Diclofenac , Ibuprofen.

## 1. Introduction

Les plaquettes sont des cellules anucléées présentes dans le compartiment vasculaire et issues de la fragmentation des mégacaryocytes. Leur rôle principal est d'initier et de participer à la formation du clou plaquettaire afin de prévenir et de traiter les phénomènes hémorragiques [1]. Cet rôle hémostatique, définie comme l'hémostase primaire, englobe une série de processus complexes. Elle implique diverses fonctions interconnectées des plaquettes, notamment leur adhésion au sous-endothélium, leur activation avec changement de forme, leur sécrétion granulaire et leur agrégation, qui culminent dans la formation du clou plaquettaire. Cet agrégat sert alors de support à la coagulation plasmatique car les phospholipides membranaires des plaquettes contribuent à la formation de complexes enzymatiques, facilitant la génération de thrombine et la transformation du fibrinogène en fibrine [2].

L'étude de l'agrégation est un test d'exploration de l'hémostase primaire qui mesure la capacité des plaquettes à former in vitro des agrégats, en présence d'agonistes plaquettaires [3]. La mise en évidence de l'agrégation plaquettaire se fait habituellement par des techniques photométriques en plasma riche en plaquettes. Décrite par Born et O'Brien en 1962, l'agrégométrie par turbidimétrie est considérée comme la technique de référence d'évaluation de la fonction plaquettaire [4].

L'étude des profils d'agrégation plaquettaire permet le diagnostic des anomalies fonctionnelles plaquettaires ou thrombopathies qui peuvent être acquises ou constitutionnelles. L'iatrogénie est l'une des causes les plus fréquentes des thrombopathies acquises. La liste des médicaments à l'origine des altérations fonctionnelles plaquettaires est non exhaustive. Les médicaments incriminés, en premier lieu, sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) avec en tête de liste l'aspirine dont le mécanisme d'action antiagrégant irréversible, acétylation de la cyclo-oxygénase enzyme plaquettaire responsable de la synthèse de prostaglandines et impliquée dans la voie de génération du TxA<sub>2</sub> a été révélé en 1971. Parallèlement, une action inhibitrice mais réversible de la cyclo-oxygénase a été avancée pour les autres AINS [5].

L'ibuprofène et le diclofénac sont deux AINS largement utilisés par la population dans la gestion de la douleur et de l'inflammation parfois même sans prescription médicale. Leur effet secondaire sur la fonction plaquettaire, pas trop documenté dans la littérature, n'est généralement pas évalué. De ce fait, nous avons mené une étude qui porte sur l'exploration biologique de l'effet de ces deux

médicaments sur les plaquettes en se basant sur l'étude fonctionnelle avec la technique turbidimétrie : l'agrégométrie par variation de la transmission lumineuse

## **Objectif de l'étude**

Déterminer Les perturbations de la fonction plaquettaire liées à la prise de l'ibuprofène et le diclofénac.

## **2. Matériel et Méthode**

### **2.1. DESCRIPTION DE L'ETUDE**

Il s'agit d'une étude prospective et expérimentale effectuée au niveau du laboratoire d'hémobiologie du CHU Nadir Mohammed , Tizi-Ouzou , sur une période de 5 mois.

#### **2.1.1. Population**

Notre étude est menée sur 30 sujets volontaires répartis selon la prise de l'Anti-inflammatoire non-stéroïdiens (AINS), en deux groupe.

Groupe 01 : composé de 15 sujets sains ayant reçu une dose de l'ibuprofène 600 mg.

Groupe 02 : composé de 15 sujets sains ayant reçu une dose de Diclofénac LP 100 mg.

#### **2.1.2. Critères d'inclusion**

Sujets jeunes, sains et volontaires, ne recevant aucune médication.

#### **2.1.3. Critères d'exclusion**

Refus de participation à l'étude.

Prise de médicament.

Consommation de café, de chocolat ou de tout autre aliment qui perturbe la fonction plaquettaire dans les 2 heures précédant le prélèvement.

## **2.2. Matériel**

### **2.2.1. Sysmex XT 1800i**

C'est un analyseur automatique d'hématologie, utilisé pour les diagnostics in vitro en laboratoires cliniques.

Cet automate associe plusieurs principes technologiques qui permettent de classer les corpuscules selon leur taille, leur nombre et leur contenu.

### **2.2.2. STA START4**

Le Start 4 est un coagulomètre semi-automatique doté de 16 puits d'incubation à 37°C, 4 filtres, 4 canaux de mesures, minuterie intégrée et alarme sonore.

Cet appareil utilise un système de détection électromagnétique qui met à profit l'augmentation de la viscosité due à la formation progressive du caillot en détectant l'arrêt de la rotation d'une bille d'acier placée dans le mélange PPP/réactifs.

### **2.2.3. Agrégomètre SD médical**

Le thrombo-agrégomètre, est un dispositif médical de diagnostic in vitro réservé à un usage qui permet la mesure de la cinétique de l'agrégation plaquettaire d'un plasma riche en plaquette.

L'agrégomètre est un photomètre qui mesure les variations de la turbidité d'une suspension de plaquettes en réponse à l'ajout d'agonistes.

L'unité de mesure est constituée de deux blocs démontables, thermostatés à 37°C, pouvant accueillir chacun 4 tubes de plasma patient (spécimens adéquats), et permettant de travailler simultanément sur les 8 voies.

## **2.3. Méthodes**

### **2.3.1. Etapes pré-analytiques**

#### **Interrogatoire**

Chaque sujet participant à l'étude a subi un interrogatoire minutieux à la recherche de maladies ou de traitements en cours, ainsi que d'antécédents personnels ou familiaux de maladies hémorragiques.

#### **Prélèvement :**

Avant chaque prélèvement, il faut s'assurer que le sujet n'a pas consommé de café ou de chocolat au préalable.

Le prélèvement sanguin a été effectué par ponction veineuse franche, soit sans garrot, soit avec un garrot faiblement serré. Les prélèvements ont été réalisés le matin à jeun ou après un repas pauvre en matières grasses. Le sang a été recueilli dans deux tubes contenant du citrate de sodium à 3,2 %

(0,105 ou 0,109 M), en respectant le rapport optimal d'un volume d'anticoagulant pour neuf volumes de sang total. Un tube EDTA a également été prélevé.

Après le prélèvement, les tubes ont été homogénéisés par retournements lents afin d'éviter toute activation plaquettaire prématurée. Les échantillons ont ensuite été acheminés rapidement au laboratoire, à une température comprise entre 18 et 22°C, en position verticale pour éviter les agitations et les vibrations.

Les tests ont été réalisés dans un délai maximal de 2 à 4 heures, à température ambiante entre 15 et 25°C.

Chacun des sujets a bénéficié de deux prélèvements sanguins. Le premier, commun à tous les volontaires, a été réalisé avant toute prise de l'AINS. Le deuxième prélèvement a été effectué après la prise du médicament :

**Groupe01** : le prélèvement a été réalisé 12 h après la prise de l'ibuprofène 600 mg.

**Groupe 02** : le prélèvement a été réalisé 15h après la prise du diclofénac 100 mg.

#### **Choix de la dose :**

-Pour l'ibuprofène, nous avons choisi 600 mg. La dose maximale étant de 1200 mg, nous estimons que si des modifications sont observées à 600 mg, elles seront au minimum maintenues, voire amplifiées, à 1200 mg.

-Pour le diclofénac, nous avons opté pour 100 mg à libération prolongée (LP). Cette dose correspond à l'utilisation courante des patients

#### **Choix de l'heure :**

- L'objectif n'est pas de détecter les anomalies de la fonction plaquettaire au pic de concentration des médicaments, mais plutôt de déterminer si l'effet persiste ou non après l'élimination du médicament de l'organisme.

### **2.3.2. Traitement des échantillons**

Vérifier que les prélèvements sont conformes, le tube EDTA est directement acheminé vers la paillasse de la cytologie pour une NFS (numération formule sanguine) et un frottis sanguin.

Une première centrifugation des deux tubes citratés est réalisée en vue de l'obtention d'un plasma riche en plaquettes (PRP) comme suit :

Taux de plaquettes > 200 G/L : 1500 tr/min pendant 5 min.

Taux de plaquettes < 200 G/L : 700 tr/min pendant 10 min.

On effectue une numération plaquettaire pour le PRP afin d'apprécier l'enrichissement des plaquettes.

Une deuxième centrifugation des deux tubes citratés est réalisée à 4000 tr/min pendant 10 min en vue de l'obtention d'un plasma pauvre en plaquettes (PPP).

### **2.3.3. Les tests biologiques**

#### **2.3.3.1. Hémogramme**

Aussi appelé numération de la formule sanguine (NFS), est l'analyse quantitative (numération) et qualitative (formule) des éléments figurés du sang : hématies (globules rouges ou érythrocytes), leucocytes (globules blancs) et thrombocytes (plaquettes), avec détermination du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite ainsi que le calcul des constantes hématimétriques.

Le frottis sanguin est réalisé en étalant une goutte de sang sur une lame en verre et en l'examinant au microscope optique après coloration MGG, il permet d'étudier la morphologie des GR, établir une formule leucocytaire et d'apprécier la richesse plaquettaire.

#### **2.3.3.2. Bilan d'hémostase**

##### **Temps de quick (TQ)**

C'est le temps de coagulation, mesuré à 37°, d'un plasma citraté pauvre en plaquettes en présence de la thromboplastine calcique qui joue le rôle d'activateur tissulaire. C'est un test chronométrique qui explore la voie extrinsèque de la coagulation impliquant les facteurs de coagulation suivants (appelés complexe prothrombinique) : facteur I (fibrinogène), facteur II, facteur V, facteur VII et facteur X. Le TQ est exprimé en seconde, il est ensuite converti en taux de prothrombine (TP) grâce à la courbe de thivolle. Valeur normal: 70% -100% .

##### **Temps de céphaline kaolin(TCK)**

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté recalcifié pauvre en plaquettes en présence de céphaline (substitut plaquettaire) et d'un activateur (kaolin). C'est un test chronométrique semi-global qui explore la voie endogène et commune. Valeur normal : ratio malade/témoin <1.2.

## **2.4. Etude fonctionnelle des plaquettes par agrégométrie**

### **2.4.1. Principe de l'agrégométrie**

Le principe de mesure repose sur la méthode de Born qui consiste à approcher quantitativement in-vitro l'agrégation des plaquettes sanguines en présence de différentes concentrations d'agents agrégeant comme l'ADP, le collagène la ristocétine ,l'acide arachidonique et l'épinéphrine . Ces derniers induisent l'activation des plaquettes, modifiant la turbidité du milieu. On mesure au cours du temps la variation de la transmission d'un faisceau lumineux dans infra-rouge (950 nm) à travers une suspension.

Une cellule photoélectrique reçoit le faisceau lumineux après son passage à travers la suspension . La variation du signal lumineux est alors enregistrée et transmise à un ordinateur pour être transcrite en courbe d'agrégation. On détermine sur la courbe ainsi obtenue la vélocité (pente de la courbe) et l'amplitude maximale (pourcentage d'agrégation ).

### **2.4.2. Les paramètres de la fonction plaquettaire**

**Le temps de latence :**Le temps de latence dans l'agrégation plaquettaire se réfère au laps de temps écoulé entre l'activation initiale des plaquettes et le début de l'agrégation plaquettaire proprement dite. En d'autres termes, il mesure le délai entre le moment où les plaquettes sont stimulées par un facteur déclenchant et le début de leur regroupement pour former un caillot sanguin.

**La vélocité :** La vélocité dans l'agrégation plaquettaire se réfère à la vitesse à laquelle les plaquettes se regroupent pour former un caillot sanguin. Cette mesure est importante pour évaluer l'efficacité et la rapidité de la réponse plaquettaire à un stimulus de coagulation.

En d'autres termes, la vélocité de l'agrégation plaquettaire quantifie à quelle vitesse les plaquettes réagissent et se lient les unes aux autres pour former un agrégat.

**Le taux d'agrégation maximal :** Le taux d'agrégation maximal dans la fonction plaquettaire se réfère au pourcentage maximum de plaquettes qui se regroupent et forment un agrégat en réponse à un stimulus de coagulation. Ce paramètre est souvent mesuré en laboratoire pour évaluer la capacité des plaquettes à former un caillot sanguin.

### 2.4.3 Mode opératoire

Tableau 1 : Réactifs utilisés

| Agoniste                       | ADP       | Ristocétine |          | Collagène | Acide arachidonique | Epinephrine |
|--------------------------------|-----------|-------------|----------|-----------|---------------------|-------------|
| Concentration initiale         | 200umol/l | 15mg/l      |          | 1ug/ml    | 15umol/ml           | 1umol/ml    |
| Volume utilisé du réactif (ul) | 50        | 80          | 35       | 40        | 80                  | 50          |
| Concentration finale           | 5umol/L   | 1.2 mg/L    | 0.5 mg/L | 5ug/ml    | 1umol/ml            | 10umol/ml   |

Faire passer le plasma pauvre en plaquettes PPP pour déterminer le 100% de la transmission lumineuse.

Faire passer le plasma riche en plaquettes PRP pour déterminer le 0% de transmission lumineuse.

On active la voie en ajoutant l'agoniste (ADP 5umol/l, RISTOCÉTINE 1.2mg/l, RISTOCÉTINE 0.5mg/l, COLLAGENE 5ug/l, ACIDE ARACHIDONIQUE 1umol/ml, ÉPINÉPHRINE 10umol/l

Après 7 minutes, on arrête la réaction et on enregistre les profils obtenus dans le logiciel (figure : 01).

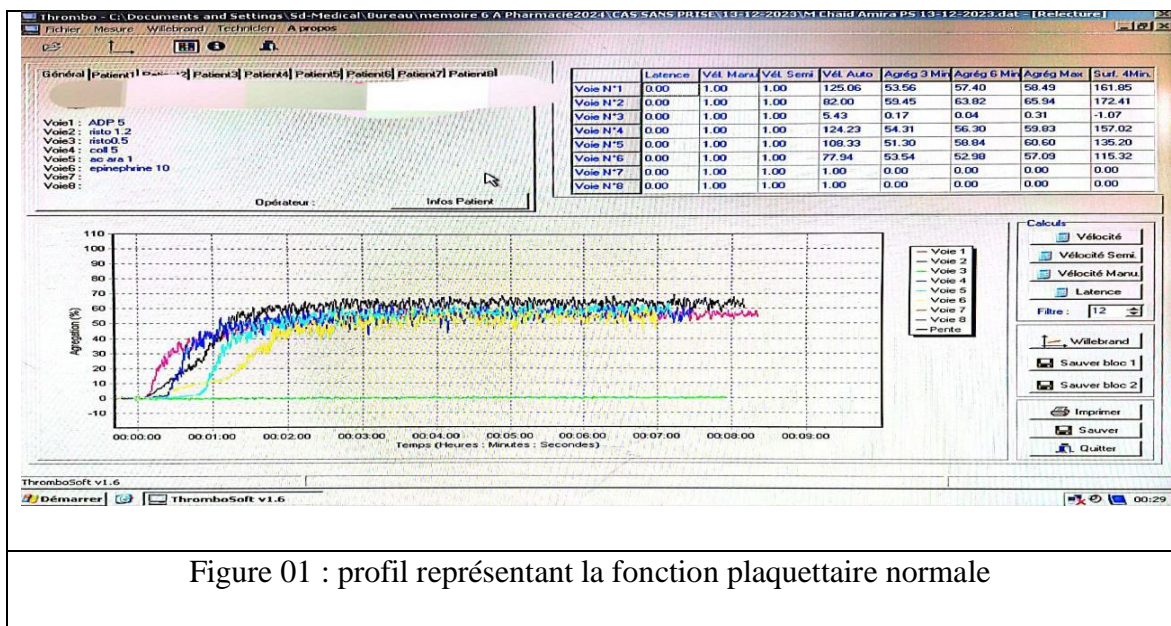


Figure 01 : profil représentant la fonction plaquettaire normale

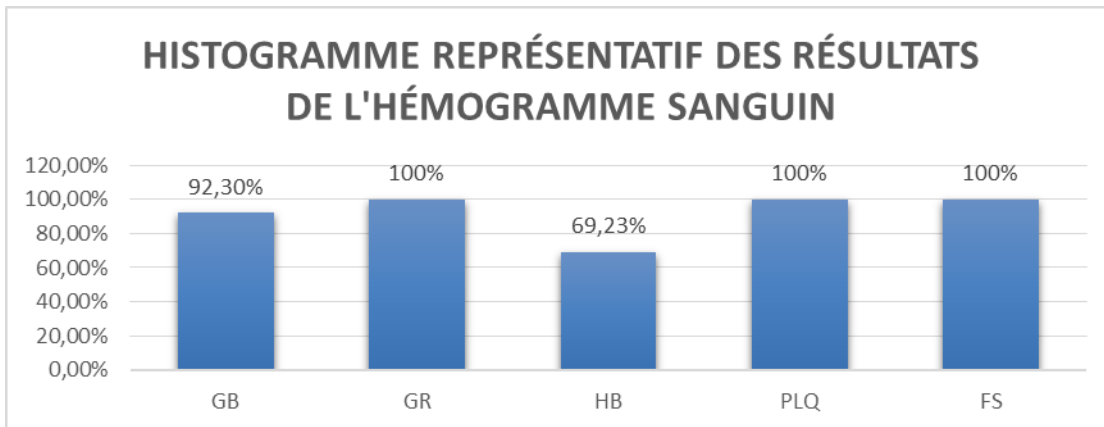
### 3. Résultats

#### 3.1. Groupe 01 (prise de l'ibuprofène )

Répartition homme/femme : 34 % homme , 66% femme.(sexe ratio)

##### 3.1.1. Avant la prise

##### 3.1.1.1. Résultats des formules numération sanguines



Normes de la Formule Numération Sanguine (FNS) :

Globules blancs (GB) :  $4,0 - 10,0 \times 10^3/\mu\text{L}$

Globules rouges (GR) :  $4,6 - 5,9 \times 10^6/\mu\text{L}$

Hémoglobine (Hb) : 12,0 - 17,0 g/dL

Plaquettes (PLQ) :  $150 - 450 \times 10^3/\mu\text{L}$

##### 3.1.1.2. Résultats des bilans d'hémostases

TP : 100% dans les normes (valeur normal : 70-100%)

TCK : 80% dans les normes (valeur normal : ratio malade/témoin  $< 1.2$ ) /

20% hors normes (allongé)

##### 3.1.1.3. Résultat de l'étude des fonctions plaquettaires avant la prise médicamenteuse

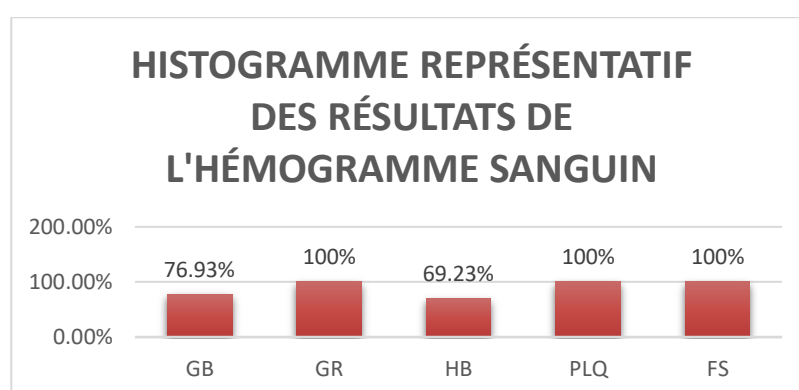
Tableau 2 : Les valeurs moyennes et les écarts types des résultats obtenus avant la prise

| Agoniste / Paramètre              | ADP (uM)              | Ristocétine 1.2(mg/ml) | Ristocétine 0.5(mg/ml) | Collagène (Ug/m)   | Acide Arachidonique (um) | Epinéphrine (uM)  |
|-----------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|-------------------|
| Temps de Latence(S)               | M= 0                  | M= 0                   | M= 0                   | M= 0               | M= 0                     | M= 0              |
| Vélocité d'agrégation maximal (%) | M=90.1<br>1<br>±30.18 | M=87.39<br>±18.86      | M=6.64<br>±3.66        | M=126.11<br>±32.66 | M=91.85<br>±24.83        | M=59.79<br>±24.50 |
| Taux d'agrégation à 3min (%)      | M=55.3<br>6<br>±10.20 | M=64.04<br>±18.86      | M=2.12<br>±1.44        | M=60.95<br>±9.51   | M=51.29<br>±22.08        | M=46.39<br>±20.76 |
| Taux d'agrégation Maximal (%)     | M=64.2<br>0<br>±9.16  | M=73.32<br>±10.53      | M=3.24<br>±1.92        | M=69.29<br>±8.07   | M=67.50<br>±9.24         | M=61.68<br>±17.66 |

Aucune anomalie n'a été signalée chez les 15 sujets avant la prise de l'ibuprofène 600mg.

### 3.1.2. Après la prise

#### 3.1.2.1. Résultats des formules numération sanguines



Normes de la Formule Numération Sanguine (FNS) :

Globules blancs (GB) : 4,0 - 10,0 x 10<sup>3</sup>/μL

Globules rouges (GR) : 4,6 - 5,9 x 10<sup>6</sup>/μL

Hémoglobine (Hb) : 12,0 - 17,0 g/dL

Plaquettes (PLQ) : 150 - 450 x 10<sup>3</sup>/μL"

### 3.1.2.2. Résultats des bilans d'hémostases

TP : 100% dans les normes.(Valeur normal :70-100%)

TCK : 80% dans les normes (Valeur normal : ratio malade/témoin <1.2 )

20% hors normes(Allongé)

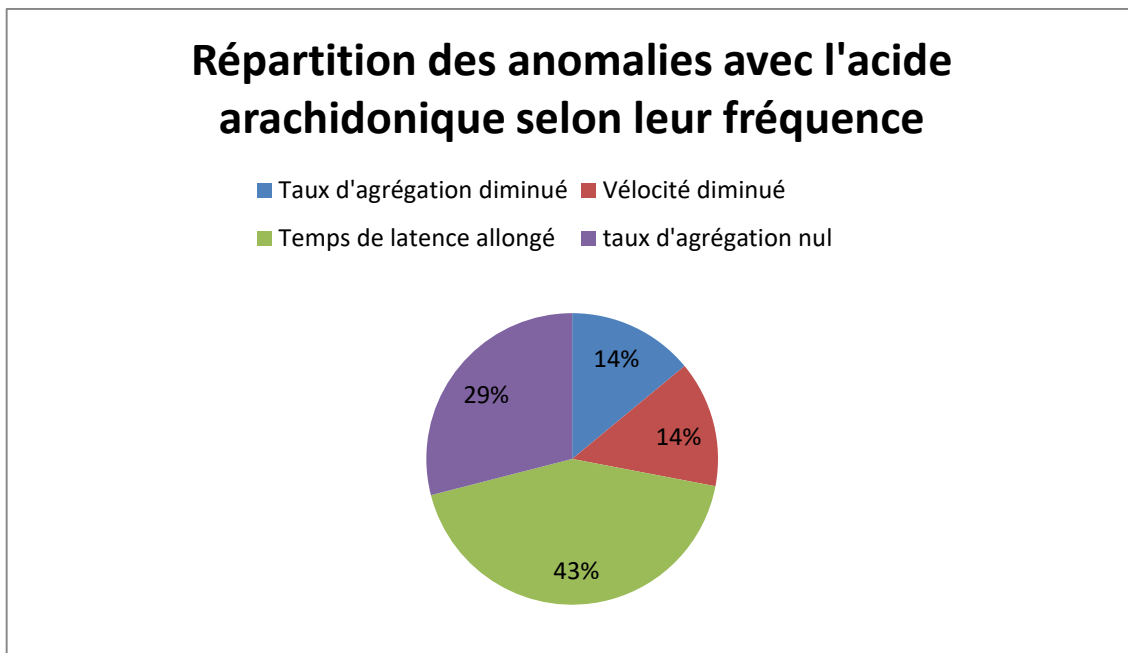
### 3.1.3.3. Résultats des fonctions plaquettaires après la prise médicamenteuse

Tableau 3 : Les valeurs moyennes et les écarts types des résultats obtenus après la prise

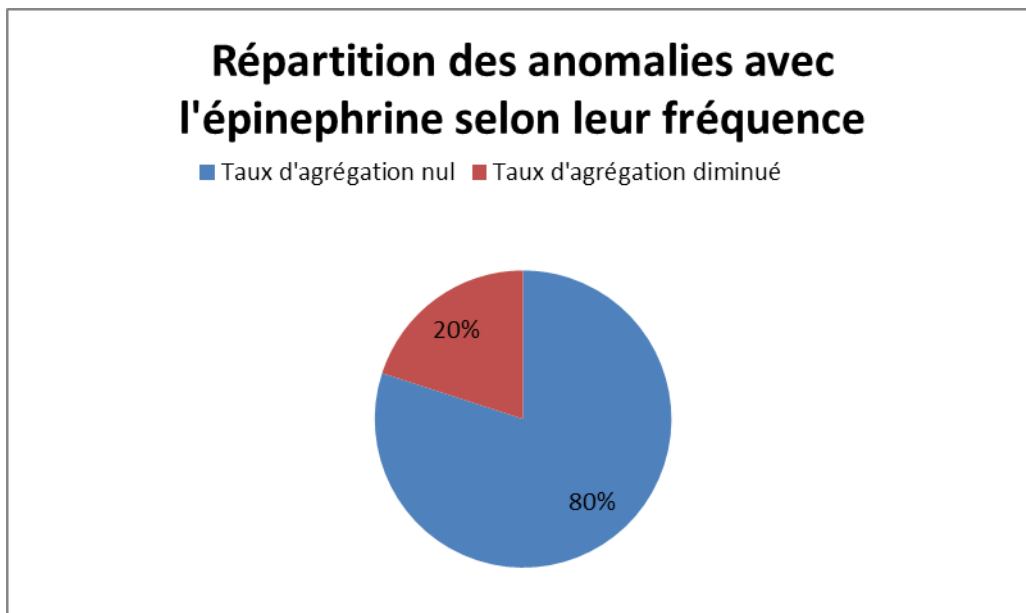
| Agoniste / Paramètre              | ADP (UM)              | Ristocétine1. 2 (mg/mL) | Ristocétine0. 5 (mg/mL) | Collagène (ug/mL)      | Acide Arachidonique (uM) | Epinéphrine (uM)  |
|-----------------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------|
| Temps de latence moyen(s)         | M=0                   | M=0                     | M=0                     | M=0                    | M=175                    | 0                 |
| Vélocité d'agrégation maximal (%) | M=87.5<br>2<br>±27.82 | M=79.56<br>±42.24       | M=6.36<br>±2.91         | M=129.6<br>9<br>±23.18 | M=73.1<br>±36.27         | M=38.68<br>±26.49 |
| Taux d'agrégation à 3min(%)       | M=51.3<br>5<br>±12.08 | M=56.64<br>±24.88       | M=1.86<br>±2.10         | M=63.92<br>±8.31       | M=40.61<br>±30.87        | M=36.14<br>±29.11 |
| Temps d'agrégation maximal (%)    | M=61.3<br>7<br>±12.19 | M=67.40<br>±20.91       | M=3.05<br>±2.44         | M=71.75<br>±7.42       | M=57.51<br>±29.22        | M=46.29<br>±30.05 |

L'étude portant sur 15 individus ayant pris de l'ibuprofène 600mg a révélé 11 profils perturbés regroupant 19 anomalies au total concernant ces agonistes : l'acide arachidonique, épinéphrine et l'ADP

L'acide arachidonique a été perturbé 7 fois, représentant environ 36,84% des anomalies



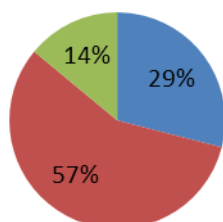
Epinephrine a été perturbée 5 fois, soit environ 26,32% des anomalies :



l'ADP a également été perturbé 7 fois, représentant environ 36,84% des anomalies :

## Répartition des anomalies avec l'ADP selon leur fréquence

- Absence de la deuxième vague d'agrégation
- Taux d'agrégation diminué
- Retard de la deuxième vague d'agrégation



### Les anomalies combinées

Certains individus ont présenté des anomalies de l'agrégation avec deux ou plusieurs agonistes, ce qui représente environ 54,54 % des profils perturbés:

-Perturbation de l'ADP, de l'acide arachidonique et de l'épinéphrine : 50 % .

-Perturbation de l'acide arachidonique et de l'épinéphrine : 16,66 % .

-Perturbation de l'ADP et de l'épinéphrine : 16,66 % .

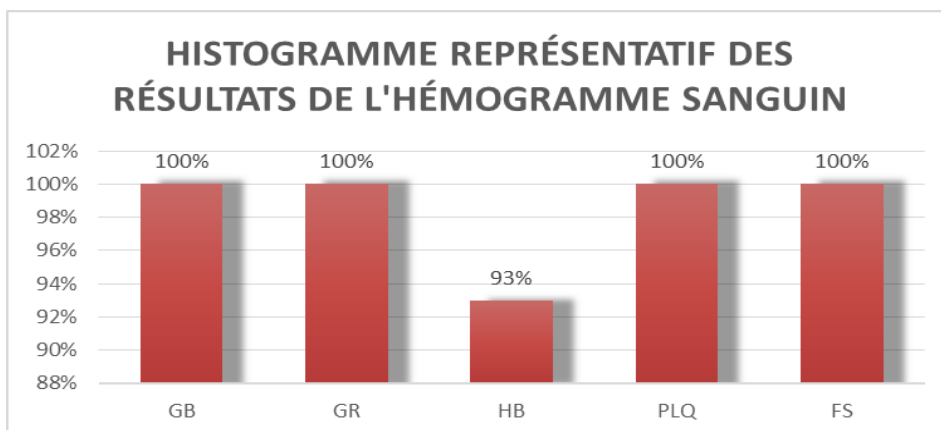
-Perturbation de l'ADP et de l'acide arachidonique : 16,66 % .

### 3.2. Groupe 02 (prise de diclofénac)

Répartition homme/femme : 14% homme , 86% femme.(sexe ratio)

#### 3.2.1. Avant la prise

##### 3.2.1.1. Résultats des formules numération sanguine :



Normes de la  
Formule

Numération Sanguine (FNS) :

Globules blancs (GB) :  $4,0 - 10,0 \times 10^3/\mu\text{L}$

Globules rouges (GR) :  $4,6 - 5,9 \times 10^6/\mu\text{L}$

Hémoglobine (Hb) :  $12,0 - 17,0 \text{ g/dL}$

Plaquettes (PLQ) :  $150 - 450 \times 10^3/\mu\text{L}$

### 3.2.1.2. Résultats des bilans d'hémostase

TP : 100% dans les normes. (Valeur normal : 70-100%)

TCK : 100% dans les normes (Valeur normal : ratio malade/témoin  $< 1.2$ )

### 3.3.1.3. Résultats de l'étude des fonctions plaquettaires avant la prise médicamenteuse

Tbleau4 : Les valeurs moyennes et les écarts types des résultats obtenus avant la prise

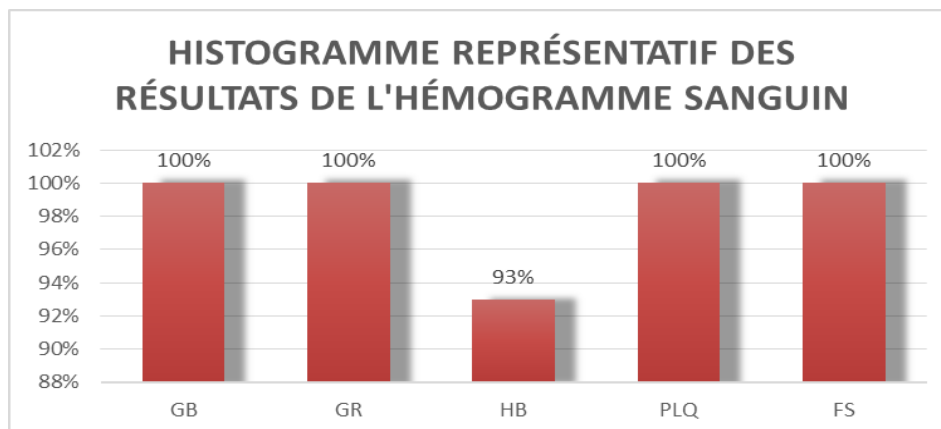
| Agoniste<br>Paramètre                      | ADP<br>(UM)           | Ristocétine<br>1.2(mg/ml) | Ristocétine0.5<br>(mg/ml) | Collagène<br>(Ug/m)    | Acide<br>Arachidonique<br>(um) | Epinephrine<br>(uM) |
|--|-----------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------------|---------------------|
| Temps de<br>Latence(S)                     | M= 0                  | M= 0                      | M= 0                      | M= 0                   | M= 0                           | M= 0                |
| Vélocité<br>d'agrégation<br>maximal<br>(%) | M=99.<br>56<br>±30.31 | M=80.81<br>±28.43         | M=9.78<br>±6.21           | M=123.0<br>6<br>±37.99 | M=94.56<br>±28.75              | M=61.60<br>±20.52   |

|                               |                  |                   |                 |                   |                   |                   |
|-------------------------------|------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Taux d'agrégation à 3min (%)  | M=53.68<br>±9.85 | M=56.54<br>±15.70 | M=1.00<br>±1.24 | M=59.89<br>±10.40 | M=52.08<br>±12.47 | M=48.04<br>±15.14 |
| Taux d'agrégation Maximal (%) | M=60.28<br>±8.92 | M=67.10<br>±12.02 | M=2.93<br>±3.28 | M=65.63<br>±10.16 | M=63.76<br>±10.61 | M=62.48<br>±11.67 |

Aucune anomalie n'a été signalé chez les 15 sujets avant la prise du diclofénac 100mg.

### 3.2.2. Après la prise

#### 3.2.2.1. Résultats des formules numération sanguines :



Normes de la Formule Numération Sanguine (FNS) :

Globules blancs (GB) : 4,0 - 10,0 x 10<sup>3</sup>/μL

Globules rouges (GR) : 4,6 - 5,9 x 10<sup>6</sup>/μL

Hémoglobine (Hb) : 12,0 - 17,0 g/dL

Plaquettes (PLQ) : 150 - 450 x 10<sup>3</sup>/μL

#### 2.2.2.2. Résultats des bilans d'hémostase

TP : 100% dans les normes(valeur normal :70-100%)

TCK : 100% dans les normes.(valeur normal. ratio malade/témoin <1.2 )

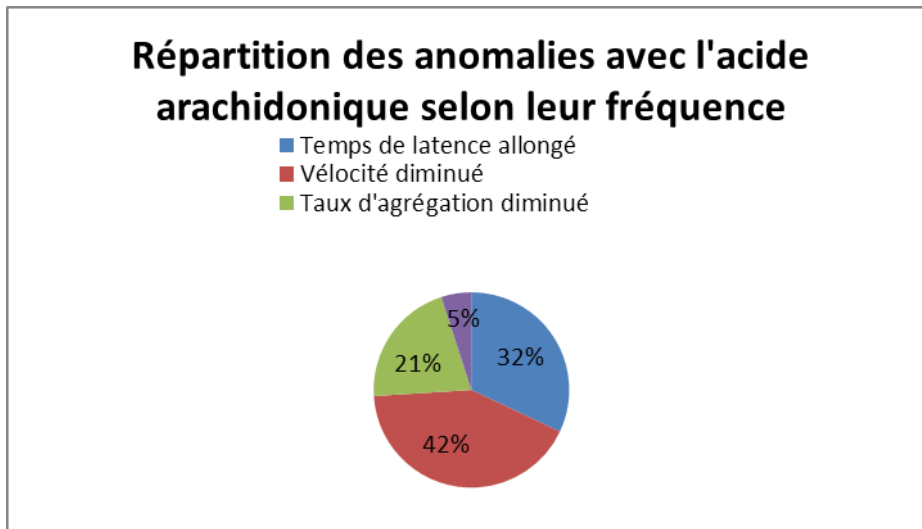
**3.2.2.3. Résultats de l'étude des fonctions plaquettaires après la prise médicamenteuse :**

Tableau5 : Les valeurs moyennes et les écarts types des résultats obtenus après la prise

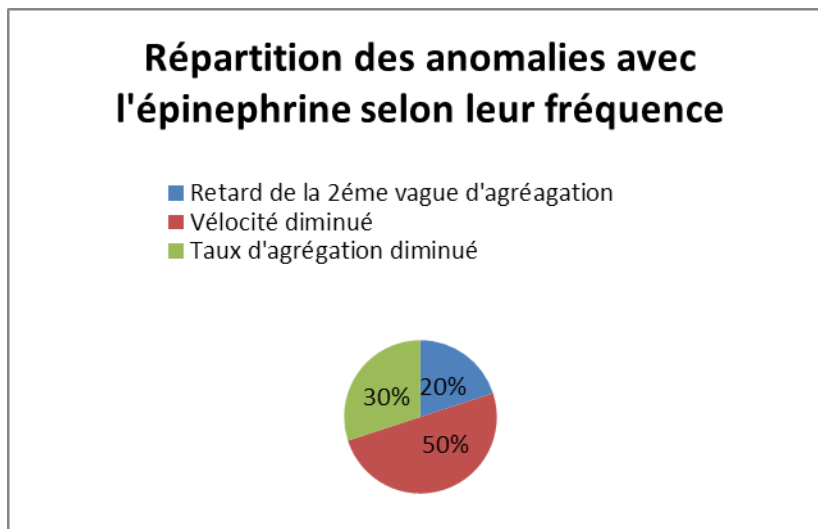
| agoniste<br>paramètre                      | ADP<br>(UM)           | Ristocétine<br>1.2(mg/ml) | Ristocétine 0.5<br>(mg/ml) | Collagène<br>(Ug/m) | Acide<br>Arachidonique<br>(um) | Epinephrine<br>(uM) |
|--|-----------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|
| Temps de<br>Latence(S)                     | M= 0                  | M= 0                      | M= 0                       | M= 0                | M=183                          | M=0                 |
| Vélocité<br>d'agrégation<br>maximal(%<br>) | M=93.1<br>±36.56      | M=86.15<br>±35.46         | M=7.66<br>±5.14            | M=118.5<br>±33.70   | M=69.98<br>±33.72              | M=51.62<br>±25.56   |
| Taux<br>d'agrégation<br>à<br>3min(%)       | M=54.3<br>4<br>±18.53 | M=61.07<br>±22.36         | M=2.33<br>±1.88            | M=63.57<br>±7.7     | M=29.12<br>±27.29              | M=42.94<br>±17.96   |
| Taux<br>d'agrégation<br>Maximal(<br>%)     | M=56.4<br>1<br>±21.11 | M=60.22<br>±18.69         | M=3.49<br>±2.02            | M=70.79<br>±9.88    | M=59.42<br>±21.88              | M=61.51<br>±20.49   |

L'étude portant sur 15 individus ayant pris du Diclofénac 100mg à révéler 11 profils perturbés comprenant 27 anomalies au total concernant ces agonistes : l'acide arachidonique, épinéphrine, l'ADP et la Ristocétine 1.2.

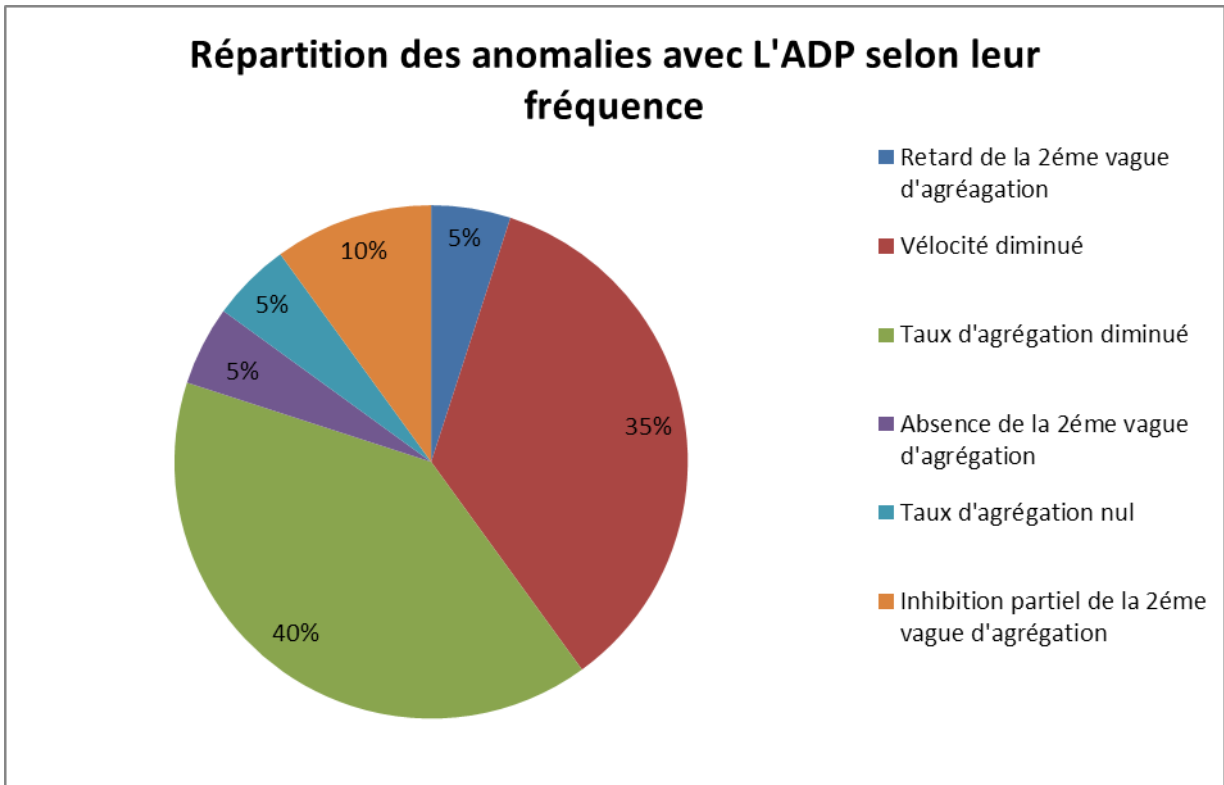
L'acide arachidonique a été perturbé 09 reprises (Dans 09 profils), représentant environ 33.33% des anomalies globales :



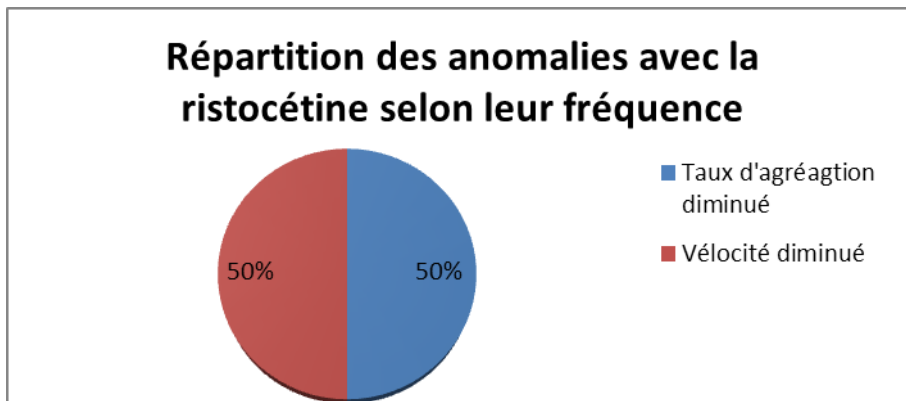
L'épinéphrine a été perturbé 06 reprises (Dans 06 profils), représentant environ 22.22% des anomalies globales :



• L'ADP a été perturbé 09 reprises (dans 09 profils) représentant environ 33.33% des anomalies globales



La Ristocétine 1.2 a été perturbée 02 fois (Dans 02 profil), représentant environ 7.41% des anomalies globales :



Les anomalies combinées

Certains individus ont présenté des anomalies de l'agrégation avec deux ou plusieurs agonistes, ce qui représente environ **72,72 %** des profils perturbés :

- Perturbations de l'ADP et l'acide arachidonique : **37,5 %** .
- Perturbations de l'ADP , l'acide arachidonique et epinéphrine : **37.5 %** .
- Perturbations de l'ADP , l'acide arachidonique, epinéphrine et la ristocétine 1.2 : **25 %** .

## **4. Discussion**

### **4.1. Biais et contraintes**

- . Problème de compliance des sujets

Certains sujets ont refusé de se soumettre à un deuxième prélèvement sanguin.

- . Quantité des PRP insuffisante

L'étude des fonctions plaquettaires par agrégométrie nécessite une grande quantité de plasma riche en plaquette.

- . La contrainte logistique

Le manque de réactifs nécessaires pour effectuer le temps de saignement et l'analyse sur PFA, a limité l'analyse.

- . Durée de la technique

L'agrégométrie est une technique particulièrement longue.

- .L'étude comparative n'a pas été réalisée en raison de l'absence d'études similaires.

L'anamnèse réalisée auprès des 30 participants n'a révélé aucun antécédent personnel ou familial de pathologie hémorragique. Les échantillons ont été traités en respectant les normes établies, ce qui a écarté tout risque de biais lié à des non-conformités lors des étapes pré-analytiques et analytiques. Le premier examen de l'hémogramme n'a révélé aucune anomalie concernant la lignée blanche, la lignée rouge et les plaquettes, ce qui suggère que les valeurs sanguines globales sont conformes aux valeurs normales en fonction de l'âge et du sexe. On confirme cette observation par l'analyse du frottis sanguin qui n'a révélé aucune anomalie cytologique. De la même manière, les tests d'hémostase globaux, tels que le temps de prothrombine (TP) et le temps de céphaline activée (TCA), ont montré des résultats satisfaisants. Ces constats permettent de focaliser notre attention exclusivement sur l'impact potentiel du diclofénac et de l'ibuprofène dans le cadre de cette étude. Nous avons obtenus des variations interindividuelle

### **4.1. Groupe 01**

Nos expériences in vitro ont confirmé les résultats de travaux antérieure, démontrant que l'ibuprofène empêche la dégranulation des plaquettes [6].

Dans un premier temps, le mécanisme d'action consiste à libérer de l'ADP par les plaquettes activées au niveau du site lésionnel [7]. L'ADP libéré se lie alors à deux types de récepteurs présents à la surface des plaquettes: les récepteurs P2Y1 et P2Y12. Deux vagues distinctes sont généralement observées dans ce processus d'agrégation plaquettaire mesuré par un agrégomètre :

Première vague d'agrégation (vague réversible) :

Cette première vague est déclenchée par la liaison de l'ADP au récepteur P2Y1 sur les plaquettes. Elle est liée à la transformation de la forme des plaquettes qui deviennent sphériques et étendues, ce qui favorise leur adhésion initiale. Toutefois, cette agrégation est réversible et de courte durée.

Deuxième vague de d'agrégation (vague irréversible) :

La seconde vague d'agrégation, plus significative et irréversible, est provoquée par la liaison de l'ADP au récepteur P2Y12. La voie de signalisation impliquant la protéine Gi est activée, ce qui entraîne la production de médiateurs pro-agrégants tels que le thromboxane A2 et l'amplification de l'activation plaquettaire.

Sur le tracé d'un agrégomètre, la première vague d'agrégation est souvent associée à une élévation initiale et transitoire de la courbe, tandis que la deuxième vague se manifeste par une augmentation continue et significative de l'agrégation plaquettaire, formant un plateau stable.

Dans notre recherche, nous avons constaté des altérations importantes dans le processus d'agrégation plaquettaire provoqué par l'ADP chez certains sujets. Ces perturbations touchaient principalement la deuxième vague d'agrégation plaquettaire irréversible, normalement déclenchée par la liaison de l'ADP au récepteur P2Y12.

Nous avons observé une inhibition totale de cette deuxième vague chez 29% des sujets. En dépit de l'induction de la première vague réversible par le récepteur P2Y1, il n'a pas été possible d'observer une agrégation plaquettaire stable après l'activation du récepteur P2Y12 par l'ADP. Cela indique une altération majeure de la voie de signalisation en aval de ce récepteur.

Au lieu d'une inhibition totale, nous avons noté un retard important dans l'émergence de la deuxième vague d'agrégation plaquettaire chez 14% des sujets. Bien que celle-ci finisse par se produire, son déclenchement était considérablement ralenti chez les sujets sains. Il est possible que cela soit dû à une modification partielle de la voie de signalisation du récepteur P2Y12 ou à une sensibilité diminuée à l'ADP.

La diminution globale du taux d'agrégation plaquettaire maximale induite par l'ADP a également été observée chez 57% des sujets. Cela pourrait être attribué à une altération des étapes en aval, telles qu'une diminution de la production des médiateurs pro-agrégants ou une désensibilisation des plaquettes à ces médiateurs.

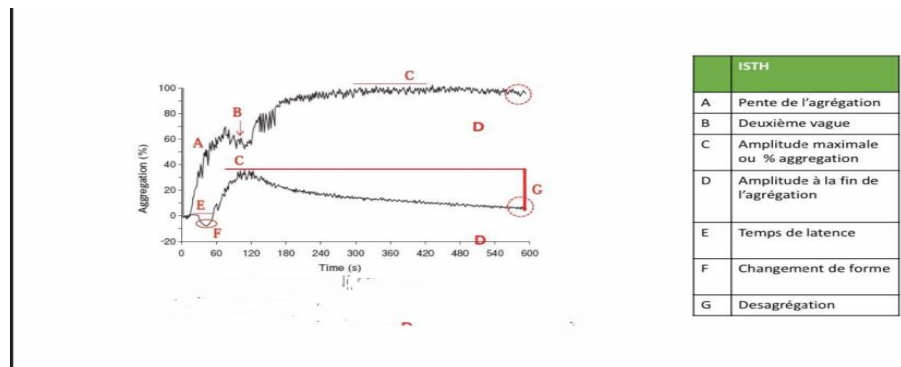


Figure02 : Agrégation plaquettaire l'ADP :normal/altéré [8]

Au cours de notre étude, nous avons également examiné un autre facteur majeur de l'agrégation plaquettaire : l'acide arachidonique. De la même manière que l'ADP, l'acide arachidonique est essentiel pour l'activation et l'agrégation des plaquettes via un mécanisme spécifique. :

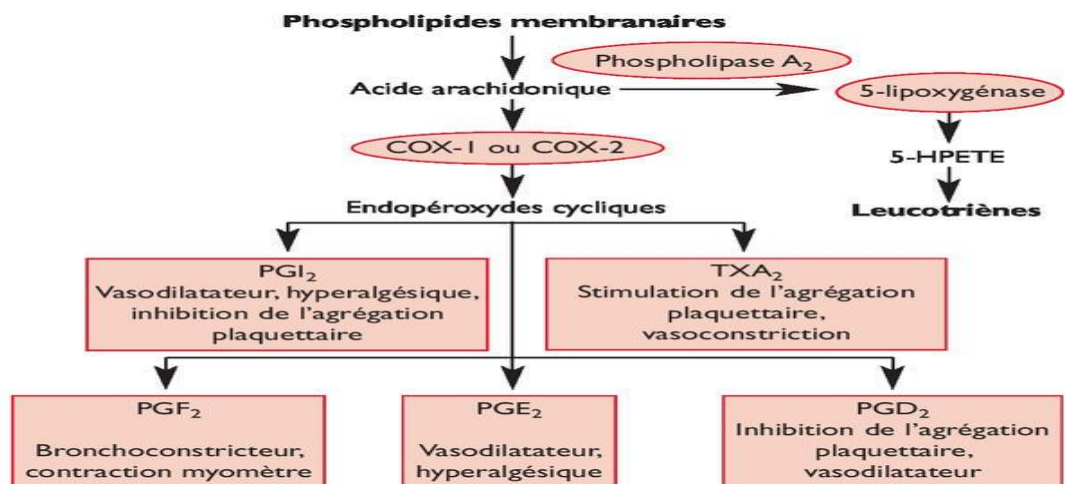


Figure03: mécanisme d'action de AA [9].

On a observé une inhibition totale de l'agrégation plaquettaire en réponse à l'acide arachidonique chez 29 % des volontaires. Le mécanisme d'action de l'ibuprofène explique cette absence complète d'agrégation en inhibant de manière non sélective les enzymes COX1 et COX2, en empêchant la production de thromboxane A2 à partir de l'acide arachidonique, ce qui supprime la transmission du signal pro-agrégant [10].

Chez 14% des sujets, malgré la détection d'une agrégation plaquettaire résiduelle, sa vitesse était nettement inférieure à celle des conditions normales. La moyenne et l'écart-type de celle-ci étaient de  $M=91,85 \pm 24,83$  avant la prise du médicament et de  $M=73,1 \pm 36,27$  après la prise. aussi dans 14% des cas, Le taux d'agrégation maximale a également, même si la cinétique initiale était normale. Ces réductions ou ralentissement de l'agrégation ( $M=67,50 \pm 9,24$  □  $M=57,51 \pm 29,22$ ) laissent entendre qu'il y a une inhibition partielle des COX par ibuprofène, ce qui entraîne une production réduite mais non abolie de la production de thromboxane A2. La signalisation en aval est simplement réduite, mais elle reste fonctionnelle.

Chez 43% des patients, l'ibuprofène a provoqué un retard considérable avant l'apparition de l'agrégation plaquettaire, avec des temps de latence pouvant atteindre 240 secondes. Ce retard est probablement le résultat d'un blocage temporaire des COX, entraînant ainsi un retard dans la production de thromboxane A2 et donc le déclenchement du signal d'activation des plaquettes.

Par la suite, l'épinephrine, aussi connue sous le nom d'adrénaline, n'est pas proprement un agoniste plaquettaire puissant par elle-même, en revanche elle prépare et sensibilise les plaquettes à d'autres activateurs plus puissants. L'épinephrine débute son mécanisme d'action en se fixant à ses récepteurs spécifiques alpha2A-adrénergiques présents à la surface des plaquettes, cette liaison entraîne une cascade de signaux intracellulaires conduisant à une augmentation des niveaux de calcium libre dans le cytoplasme des plaquettes, ce qui permet un changement de forme caractéristique des plaquettes, qui s'aplatissent et s'étendent, favorisant ainsi leur adhésion initiale. En même temps, l'épinephrine renforce ses voies de signalisation pour d'autres agonistes tels que l'ADP ou le collagène [11].

Des modifications des taux d'agrégation plaquettaire induite par épinephrine ont été observées après la prise d'ibuprofène.

Le taux d'agrégation a été nul pour 80% des sujets, ce qui suggère une absence complète de son effet. Cela pourrait être dû à l'inhibition ou à la désensibilisation des récepteurs alpha2A-adrénergiques, ce qui empêche l'augmentation du calcium [12].

Le taux d'agrégation n'a connu qu'une diminution pour 20% des sujets ( $M=61,68 \pm 17,66$  à  $M=46,29 \pm 30,05$ ), ce qui s'explique par une sensibilisation partielle via la voie calcique.

Aucune anomalie n'a été observée pour les deux agonistes, le collagène et la ristocétine 1,2 . Aucun écart notable n'a été constaté entre les mesures préalables et postérieures à la prise d'ibuprofène. Les résultats indiquent que l'administration de ce médicament n'a pas eu d'effet

significatif sur la fonction plaquettaire induite par le collagène et la ristocétine 1,2 chez les sujets de l'étude.

La libération des granules denses d'ADP pourrait être influencée par les perturbations de l'acide arachidonique, ce qui laisse supposer une corrélation entre ces deux processus physiologiques. Cette observation permet d'avancer l'hypothèse selon laquelle les anomalies observées dans la libération de l'ADP pourraient être liées aux perturbations de l'acide arachidonique.

## 4.2. Groupe 02

Bien que le diclofénac partage le même mécanisme d'inhibition de la COX que l'ibuprofène, ses effets sur les voies d'activations plaquettaire médiée par les différents agonistes peuvent varier.

Diverses perturbations du processus d'agrégation plaquettaire induite par l'ADP ont été révélées dans notre étude.

Il a été observé que chez 10% des participants, la seconde vague d'agrégation plaquettaire en réponse à l'ADP était en partie inhibée, alors que la première vague d'agrégation réversible, qui était régulée par le récepteur P2Y1, s'est déroulée de manière normale. Il est possible que cela soit dû à des défauts qui affectent partiellement l'activité fonctionnelle du récepteur P2Y12 lui-même, ou à une signalisation en aval de ce récepteur qui serait imparfaite. Ces altérations partielles dans l'activité ou la signalisation du récepteur P2Y12 ne permettraient pas une activation plaquettaire complète ni une agrégation plaquettaire maximale en réponse à l'ADP [13].

Chez 5 % des volontaires, la seconde vague d'agrégation plaquettaire a été totalement inhibée.

Pour près de 5% des sujets, nous avons constaté un retard significatif dans le déclenchement de la seconde vague d'agrégation plaquettaire.

Nous avons observé une diminution généralisée du niveau maximal d'agrégation plaquettaire causée par l'ADP chez 40% des sujets ( $M=60,28 \pm 8.92$  □  $M=56.41 \pm 21.11$ ).

Un phénotype ADP nul est observé chez 5% des volontaires, ce qui signifie qu'il n'y a pas d'agrégation induite par l'ADP, ce qui indique que les récepteurs P2 Y1 et P2 Y12 n'ont pas été activés [14].

Concernant la vélocité de l'agrégation plaquettaire en réponse à l'ADP, nous avons observé une diminution chez 45% des sujets ( $M=99.56 \pm 30.31$  =>  $M=93.1 \pm 36.56$ ). Il est possible que cette baisse soit causée par une modification de la voie de signalisation du récepteur P2Y12.

En réponse à l'acide arachidonique, l'agrégation plaquettaire a diminué chez environ 21% des volontaires). ( $M=63.73 \pm 10.61$  □  $M=59.42 \pm 21.88$ ). La vitesse de l'agrégation a diminué chez environ 42% des sujets ( $M=94.56 \pm 28.75$  □  $M=69.98 \pm 33.72$ ). Aucune agrégation n'a été constatée chez 5 % des sujets en réponse à l'acide arachidonique. En outre, 32% des volontaires ont exprimé un délai significatif avant l'apparition de l'agrégation plaquettaire, ce qui se traduit par des temps de latence prolongés pouvant atteindre 183s.

La Ristocétine, un antibiotique lorsqu'il est ajouté à un plasma riche en plaquettes (PRP), favorise l'interaction entre le facteur von Willebrand (vWF) et son récepteur plaquettaire, la glycoprotéine GPIb-V-IX. Selon les résultats de l'agrégation induite par la ristocétine, il a été constaté que : Chez 37% des sujets, le taux d'agrégation a diminué en réponse à la ristocétine 1.2 ( $M=67.10 \pm 12.02 \pm 18.69$ ). Il est possible que cette baisse soit causée par une modification du récepteur GPIb-V-IX. Le diclofénac peut modifier la structure ou l'expression du complexe GPIb-V-IX, diminuant ainsi l'interaction entre le facteur von Willebrand (vWF) et son récepteur, ce qui entraîne une réduction de l'agrégation plaquettaire induite par la ristocétine.

Selon les résultats de l'agrégation induite par l'épinephrine, il a été observé que chez 30% des sujets, le taux d'agrégation de l'épinephrine était diminué. La vitesse a diminué chez 50% des sujets ( $M=61.60 \pm 20.52$  à  $M=51.62 \pm 25.56$ ), ce qui reflète la vitesse à laquelle les plaquettes se regroupent pour former un caillot sanguin.

Aucune anomalie n'a été observée en ce qui concerne le collagène, aucun changement significatif n'a été observé entre les mesures préalables et postérieures à la prise du diclofénac. Ce résultat suggère que la fonction plaquettaire induite par le collagène n'a pas été altérée de manière notable par l'administration de ce médicament chez les sujets de l'étude.

Les résultats de notre étude ont révélé qu'à chaque fois qu'on observe une longue période de latence avec l'acide arachidonique, nous constatons également des perturbations dans d'autres agonistes, tels que l'ADP et l'épinéphrine respectivement. Cette corrélation suggère qu'il y a peut-être un lien entre ces perturbations.

## 5. CONCLUSION

La prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) doit être systématiquement prise en compte avant toute évaluation de la fonction plaquettaire, et ce même après une seule dose. L'interrogatoire du patient est donc essentiel afin de s'assurer qu'aucun AINS n'a été récemment consommé, au risque d'obtenir des résultats biaisés.

Pour les patients traités avec les AINS à long terme, il serait avantageux de préconiser une étude des fonctions plaquettaires avant la mise en place du traitement afin de rechercher des anomalies plaquettaires pouvant être majorées par l'installation de traitement anti-inflammatoire et pouvant être à l'origine d'hémorragie.

A l'exception des antiagrégants plaquettaires, les perturbations de la fonction plaquettaire liées aux prises médicamenteuses sont pour la majorité inconnues. De ce fait, on souligne l'importance de la réalisation de tests explorant la fonction plaquettaire lors de la suspicion de troubles de l'hémostase primaire induits par des médicaments afin d'élargir notre connaissance sur l'impact de ces derniers sur la fonction plaquettaire.

## **Bibliographie :**

1. Laine M, Frère C, Bonello L. Principaux médicaments antiagrégants : maniement, surveillance et gestion des complications. EMC - Traité Médecine Akos 2020232. (1-7 [Article 2-0496].).
- 2.: Elalamy I. Thrombopathies acquises et congénitales. EMC Elsevier SAS Paris Hématologie. (13-021-A-10, 2006.).
- 3.: Camoin-Jau L. Tests fonctionnels plaquettaires. EMC - Biol Médicale 200611. (:1-5 [Article 90-20-0200].).
4. Elalamy I, Gkalea V, Gerotziapas G, Ketatni H, Hatmi M. L'exploration fonctionnelle plaquettaire : intérêts en pratique clinique. Ann Biol Clin 2013 71special 1. (47-57 doi:10.1684/abc.2013.0905).
5. Maghraoui, PAE (n.d.). Non-steroidal anti-inflammatoires. Prescription conditions. Disponible sur: <https://www.rhumato.info/cours-revues2/87-anti-inflammatoires-non-steroidiens/71-les-anti-inflammatoires-non-steroidiens-modalites-de-prescription>
6. Ikeda Y. The Effect of Ibuprofen on Platelet Function in Vivo. Keio J Med. 1977;26(4):213-22.
7. Gachet C. ADP receptors of platelets and their inhibition. Thromb Haemost. juill 2001;86(1):222-32.
8. Alessi MC, Payrastre B, Sié P. Intérêt et limites des tests d'agrégation pour le diagnostic des anomalies fonctionnelles plaquettaires constitutionnelles. Hématologie. 1 sept 2017;23(5):298-311.
9. Ataman Kimya [Internet]. [cité 13 juin 2024]. L'ACIDE ARACHIDONIQUE. Disponible sur: [https://www.atamanchemicals.com/arachidonic-acid\\_u26061/?lang=FR](https://www.atamanchemicals.com/arachidonic-acid_u26061/?lang=FR)
10. Le Figaro Santé [Internet]. 2016 [cité 13 juin 2024]. Anti-inflammatoires non stéroïdiens : informations et actualités. Disponible sur: <https://sante.lefigaro.fr/sante/traitement/anti-inflammatoires-non-steroidiens/definition>
11. Yardumian DA, Mackie IJ, Machin SJ. Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. J Clin Pathol. juill 1986;39(7):701-12.

12. Zhou L, Schmaier AH. Platelet Aggregation Testing in Platelet-Rich Plasma: Description of Procedures With the Aim to Develop Standards in the Field. *Am J Clin Pathol.* févr 2005;123(2):172-83.
13. Armstrong PCJ, Leadbeater PD, Chan MV, Kirkby NS, Jakubowski JA, Mitchell JA, et al. In the presence of strong P2Y<sub>12</sub> receptor blockade, aspirin provides little additional inhibition of platelet aggregation. *J Thromb Haemost JTH.* mars 2011;9(3):552-61.
14. Turner NA, Moake JL, McIntire LV. Blockade of adenosine diphosphate receptors P2Y<sub>12</sub> and P2Y<sub>1</sub> is required to inhibit platelet aggregation in whole blood under flow. *Blood.* 1 déc 2001;98(12):3340-5.