



**HAL**  
open science

# Fonction plaquettaire et altération de l'hémostase après hémorragie sous arachnoïdienne

Pauline Perez

► **To cite this version:**

Pauline Perez. Fonction plaquettaire et altération de l'hémostase après hémorragie sous arachnoïdienne. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01781357

**HAL Id: dumas-01781357**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01781357>**

Submitted on 30 Apr 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

# AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4*

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10*

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES  
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2017

N° 7

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE  
DOCTEUR EN MÉDECINE

Fonction plaquettaire et altération de l'hémostase  
après hémorragie sous arachnoïdienne

Présentée et soutenue publiquement  
le 26 janvier 2017

Par

**Pauline PEREZ**

Née le 15 avril 1986 à Mantes-la-Jolie (78)

Dirigée par Mme Le Docteur Anne-Claire Lukaszewicz, MCU-PH

Jury :

M. Le Professeur Didier Payen de La Garanderie, PU-PH..... Président

M. Le Professeur Ludovic Drouet, PU-PH

M. Le Professeur Emmanuel Houdart, PU-PH



Except where otherwise noted, this work is licensed under  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

# Remerciements

A Mr Le Professeur Payen de la Garanderie,  
Pour m'avoir montré que tous les dogmes médicaux devaient être questionnés et que le travail scientifique consistait à transformer « un bel émerveillement par une belle explication ».

Le passage dans votre service a fait totalement changer mes perspectives aussi bien médicales que scientifiques.

A Mme Le Docteur Anne-Claire Lukaszewicz,  
Pour m'avoir donné envie de faire de la Médecine ET des Sciences.  
Pour m'apprendre tant de choses.  
Pour la gentillesse, la bienveillance et l'amitié dont tu fais preuve à mon égard.  
J'espère que ce n'est que les prémisses du travail que nous allons faire ensemble.  
C'est avec un grand enthousiasme que j'attends de te retrouver à Lyon.

A Mr le Professeur Drouet pour toute votre aide et vos conseils au cours de ce projet.  
Merci d'avoir accepté de juger ce travail.

A Mr le Professeur Houdart pour avoir accepté de faire partie de ce jury.  
Merci d'avoir accepté de juger ce travail.

Aux équipes médicales et paramédicales d'Anesthésie-Réanimation de Lariboisière et de Beaujon, j'ai beaucoup appris à votre contact.

A l'équipe de Réanimation neurologique de l'hôpital de La Pitié-Salpêtrière pour leur patience à m'initier à la Neurologie.

A mes amies de médecine : Clémence, Nadine, Caroline, Marie, Armelle et Diane, comme c'est agréable de savoir qu'on fait partie d'un groupe sur lequel on peut toujours compter, ça a commencé sur les bancs de la fac, s'est poursuivi lors des révisions des Cobrières et ça continue... Je vous adore!

Merci aux 3C1N Camille, Clémence, Caroline et Nadine, vous êtes tout le temps là pour moi!

A mes co-internes rencontrés pendant l'internat qui sont devenus plus par la suite : Alexandra, Mélissa, Bernadette, Virginie, Sarah, Fabien, Jean Paul, être en stage avec vous et ailleurs... rend la vie plus joyeuse! Un merci tout particulier à Alexandra qui m'a appris la neurologie avec « ambiance » et gentillesse et à Mélissa pour les derniers moments un peu stressant...

A Gersende, Stéphanie et Gaëlle, du foyer Ste Geneviève à maintenant, que de chemin parcouru, c'est toujours un vrai plaisir de passer du temps avec vous!

Merci à Thomas et Samuel pour vos conversations stratosphériques, merci à Anne pour m'avoir fait lire des remerciements bien pires que les miens.

A mes frères, François et Pierre et ma belle-sœur Céline, Momos est la personnification du Sarcasme et de la Moquerie, il est le dieu grec de la raillerie, des malicieuses critiques et des bons mots, merci de l'inviter si souvent!

Un merci plus particulier à Pierre pour m'avoir apporté mon ordinateur, chargeur... en toutes circonstances et dans tous les hôpitaux de Paris.

A mes parents, si le papa et la maman de Michel-Ange n'y avait pas cru, il aurait peint le sol de la Sixtine... Merci d'y avoir cru, d'y croire encore... et surtout de toujours me donner des conseils avisés : "Quand tu vas commencer à mesurer le fond de la mer, fais bien attention de ne pas trop te pencher, et de ne pas tomber par-dessus bord et là où ça sera trop profond, laisse un peu mesurer les autres »

## Liste des abréviations

HSA= Hémorragie sous arachnoïdienne

VS= Vasospasme

DCI= Delayed cerebral ischemia

GpIIbIIIa= Glycoprotéine IIbIIIa

CD62P= P-sélectine

PFA100= Platelet function analyzer-100

Epi= Epinéphrine

FVW= facteur von Willebrand

ADP= adenosine diphosphate

TRAP= thrombin receptor activating peptide

VASP= Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein

AA= Arachidonic Acid

FVIII= facteur VIII

LCR= Liquide Céphalo-Rachidien

CRP= Protéine-C-Réactive

TBxB2= Thromboxane B2

TBXA2= Thromboxane A2

IL-1= Interleukine-1

TNF $\alpha$  =Tumor Necrosis Factor

Postop= Patients en post-opératoire de chirurgie orthopédique

# Table des matières

Table des matières	5
Table des figures	7
Liste des tableaux	8
<b>1 Introduction</b>	<b>9</b>
1.1 Epidémiologie et rationnel . . . . .	9
1.2 Mécanismes et diagnostic de l'ischémie retardée . . . . .	10
1.2.1 Historique du vasospasme et de l'ischémie retardée . . . . .	10
1.2.2 Physiopathologie de l'ischémie cérébrale . . . . .	11
1.2.3 La difficile question clinique du vasospasme et de l'ischémie retardée	13
1.3 Physiologie plaquettaire . . . . .	14
1.3.1 Les fonctions plaquettares . . . . .	14
1.3.2 Les explorations de la fonction plaquettares . . . . .	18
1.3.3 Les antiagrégants plaquettares . . . . .	19
1.3.4 Profil plaquettaire et hémostase primaire dans l'hémorragie méningée	22
1.4 Conclusion . . . . .	24
<b>2 Matériels et méthodes</b>	<b>25</b>
2.1 Populations étudiées . . . . .	25
2.2 Prise en charge des patients HSA et dépistage du vasospasme . . . . .	26
2.3 Prélèvements et dosages biologiques . . . . .	26
2.4 Description des dosages . . . . .	27
2.5 Comité d'éthique . . . . .	28
2.6 Analyse statistique . . . . .	28
<b>3 Résultats</b>	<b>29</b>
3.1 Description de la population . . . . .	29
3.1.1 Pour les patients HSA . . . . .	29
3.1.2 Pour les patients d'orthopédie . . . . .	29
3.2 Comparaison entre les dosages à J5 et J10 . . . . .	30
3.3 Fonction plaquettaire et hémostase durant la période à risque de vasospasme	33
3.4 Fonction plaquettaire dans l'hémorragie méningée et statut inflammatoire .	36

<b>4</b>	<b>Discussion</b>	<b>39</b>
4.1	Résumé et critiques des résultats . . . . .	39
4.1.1	Fonction plaquettaire dans l'HSA . . . . .	39
4.1.2	Comparaison avec le groupe Postop . . . . .	39
4.1.3	Evolution vers l'ischémie retardée . . . . .	40
4.2	Limites méthodologiques . . . . .	40
4.3	Une suractivation plaquettaire . . . . .	41
4.4	Une activation endothéliale . . . . .	42
4.5	La voie de l'ADP, une voie préférentielle . . . . .	42
<b>5</b>	<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>44</b>
	<b>Bibliographie</b>	<b>45</b>
	<b>Annexe A :</b>	<b>53</b>
	<b>Annexe B :</b>	<b>54</b>

# Table des figures

1.1	Fonctions multiples des plaquettes . . . . .	15
1.2	Représentation schématique et simplifiée des voies d'activation menant à l'agrégation . . . . .	17
1.3	Schéma simplifié des voies impliquées par les antiplaquettaires . . . . .	20
3.1	Heatmap représentant les paramètres de l'hémostase primaire pour chacun des patients à J5 et J10 . . . . .	31
3.2	Boxplot : Exploration de l'activité plaquettaire à J10 selon la présence ou non d'un DCI. . . . .	34
3.3	Boxplot : Pourcentages de facteur VIII (FVIII) et facteur Von Willebrand (FVW) en fonction du GOS . . . . .	35
3.4	Heatmap représentant les paramètres de l'hémostase primaire pour chacun des patients HSA à J10 et pour chacun des patients Postop . . . . .	38
A.1	Classification Fisher modifiée et risque de DCI (Delayed cerebral ischemia)	53

# Liste des tableaux

1.1	Les différents antiplaquettaires et leurs mécanismes inhibiteurs. . . . .	21
1.2	Résumé des études chez l'Homme étudiant la fonction plaquettaire et l'hémostase primaire dans l'HSA anévrysmale.. . . .	23
3.1	Résumé des caractéristiques des patients HSA, avec une ischémie retardée ou sans ischémie retardée . . . . .	30
3.2	Comparaison entre paramètres inflammatoires, d'activation et d'agrégation chez les patients du groupe HSA à J5 (précoce) et à J10 (tardif) . . . . .	32
3.3	Tableau comparant les paramètres inflammatoires, d'activation et d'agrégation chez les patients du groupe HSA et Postop. . . . .	37
B.1	Résumé des caractéristiques de chaque patient HSA. . . . .	54
B.2	Résumé des caractéristiques de chaque patient Postop. . . . .	55

# Partie 1

## Introduction

### 1.1 Epidémiologie et rationnel

L'hémorragie sous-arachnoïdienne (HSA) anévrysmale est une pathologie vasculaire aiguë grave dont la physiopathologie n'est que partiellement comprise. Elle est grevée d'une forte mortalité et connaît une évolution défavorable vers la dépendance estimée à 25% chez les survivants[1]. L'incidence de l'HSA est de 3 à 7 pour 100 000 sujet-année en France[2]. Dans le passé, la cause majeure de morbidité et de mortalité chez les patients qui survivaient au premier saignement était la récurrence du saignement[3]. La prise en charge de l'anévrysme a longtemps été uniquement chirurgicale, mais le développement des approches endovasculaires pour la sécurisation de l'anévrysme, constitue une prise en charge moins invasive, rapide et efficace[1]. Plus tard dans l'évolution, l'exploration neurovasculaire interventionnelle permet également le diagnostic et le traitement d'une complication majeure de l'HSA, le vasospasme responsable d'ischémie cérébrale[4]. Néanmoins, ces procédures sont délicates et associées à des risques de complications comme la dissection d'un vaisseau, des thromboses vasculaires, des embolies et finalement des infarctus cérébraux[5].

L'incidence du vasospasme dans l'HSA est élevée, environ 30-40%[6], et peut apparaître dès le 5e jour après la rupture avec un pic d'incidence au 9e jour. Classiquement, il s'agit d'une vasoconstriction préférentiellement dans le territoire des artères cérébrales au contact de l'hémorragie avec le risque d'un infarctus cérébral dans le territoire du vaisseau spasmé. Le vasospasme est classiquement défini par la réduction du calibre d'une artère cérébrale. Cependant, le mécanisme étiologique de la réduction de la lumière vasculaire est mal compris, mais impliquerait une anomalie de l'endothélium avec une agrégation plaquettaire à sa surface. Les études récentes[7] évoquent plusieurs phénomènes :

- la contraction excessive des muscles lisses vasculaires avec un rôle pivot du calcium intracellulaire[8, 9]
- l'action d'agent spasmogène et le déséquilibre entre vasoconstricteur et vasodilatateur qui peuvent être des agents liés à la dégradation d'éléments du sang[10, 11, 12]
- l'inflammation[13]
- le remodelage vasculaire lié à une prolifération endothéliale[3],
- la dépression corticale envahissante[14].

Le point de départ semble être tout de même la dégradation des éléments du sang

(hémolyse, dégradation du clou plaquettaire) autour du vaisseau qui correspondrait à la chronologie de l'apparition et de la disparition du vasospasme[15]. Néanmoins, cette vision est remise en question depuis une dizaine d'années. En effet, le vasospasme tel qu'il est décrit, concernerait les gros vaisseaux cérébraux proximaux. En fait, il est probable qu'il s'agisse d'une angiopathie plus diffuse concernant également la microcirculation. Ainsi, dans une étude[16], il a été montré qu'il existait un fort lien entre la sévérité du vasospasme et l'ischémie cérébrale retardée mais également qu'on pouvait retrouver dans une faible proportion une ischémie cérébrale sans vasospasme (environ 3 à 10%) suggérant l'implication d'une angiopathie des vaisseaux les plus distaux.

L'activation plaquettaire au cours du vasospasme a été précédemment décrite. Tout d'abord en anatomo-pathologie, sur l'autopsie de 29 patients retrouvant de multiples microthrombi dans les zones de vasospasme et d'ischémie retardée[17] mais également sur des tests fonctionnels plaquettaires en faveur d'une hyperagrégabilité plaquettaire[18, 19]. Les voies d'activation de cette hyperagrégabilité ont été peu étudiées, particulièrement dans une cohorte de patients ayant bénéficié d'un traitement endovasculaire (versus traitement chirurgical). L'inhibition de l'agrégabilité plaquettaire a été envisagée pour la prévention de l'ischémie cérébrale secondaire au vasospasme. Dans ce contexte, une méta-analyse Cochrane de 2007[20] incluant 7 essais randomisés impliquant des traitements antiplaquettaires n'avait pas conclu à une diminution de la mortalité du fait d'un risque potentiellement important de saignement. Cependant, il s'agissait d'études anciennes avec une caractérisation de l'agrégabilité plaquettaire moins précise que celle apportée par les tests disponibles aujourd'hui. Ces études testaient, de plus, divers traitements antiagrégants dirigés sur différentes cibles des voies d'activation plaquettaire (aspirine, ticagrelor, clopidogrel...). Depuis, les traitements antiagrégants ne sont ni recommandés dans la prise en charge classique des HSA, ni au cours du vasospasme.

L'objectif de ce travail est d'identifier les mécanismes prédominants dans l'hyperagrégabilité plaquettaire au cours de la phase aiguë de l'HSA. Nous détaillerons donc la fonction plaquettaire et l'hémostase dans les premiers jours après la rupture anévrysmale puis durant la période à risque de vasospasme et d'ischémie cérébrale retardée. La fonction plaquettaire et les marqueurs d'hémostase seront comparés entre les patients présentant une ischémie retardée ou non. Nous comparerons également la fonction plaquettaire des patients avec HSA à des patients en post-opératoire de chirurgie orthopédique avec un statut thrombotique et inflammatoire bien décrit antérieurement[21, 22, 23].

## 1.2 Mécanismes et diagnostic de l'ischémie retardée

### 1.2.1 Historique du vasospasme et de l'ischémie retardée

La question du vasospasme et de l'ischémie retardée est difficile car ces concepts suivent des avancées scientifiques progressives. MacDonald[24] s'est intéressé à cette histoire pour développer les notions utilisées aujourd'hui. Historiquement, la première description d'hémorragie méningée à laquelle nous avons accès est probablement celle d'Hippocrate au Ve siècle av. JC :

*"Ceux qui, en santé, sont pris de douleurs soudaines dans la tête, gisent privés subitement de la parole et ont la respiration stertoreuse, ceux-là périssent en sept jours."*

Il faut attendre le XVIIIe siècle pour que le lien soit fait entre l'anévrisme cérébral et la survenue d'une hémorragie méningée[24]. Plusieurs textes rapportent la présence de différents stades au cours de l'HSA et plus particulièrement l'intervalle libre avec parfois un retour aux fonctions cognitives et motrices complètes entre la survenue de la céphalée inaugurale et le décès. À la fin du XVIIIe, Hunter, chirurgien militaire de Philadelphie, décrit une phase de contraction artérielle en mettant en cause une action musculaire sur les vaisseaux, liée à l'inflammation[25], à la suite de traumatismes cérébraux. Il s'agit probablement de la première description médicale du vasospasme avec une tentative d'explication physiopathologique. Néanmoins, le lien entre vasospasme et ischémie n'est pas fait. Au cours du XIXe et XXe siècle, les scientifiques et médecins s'intéressent à la vascularisation cérébrale. Ils mettent en évidence l'action de certaines substances vasoconstrictrices (chlorure de baryum[26]) et vasodilatatrices (CO<sub>2</sub> et dérivés nitrogénés[27]).

Dans la première moitié du XXe siècle, plusieurs cas d'autopsie retrouvent des plages cérébrales infarctées sans thrombus, ni embolie à l'examen macroscopique, chez des patients ayant du sang dans l'espace sous arachnoïdien[28], les premières hypothèses d'un spasme artériel ont alors été développées sans approbation de la communauté scientifique. Parallèlement, les premières méthodes chirurgicales pour clipper l'anévrisme débutent par Dandy, neurochirurgien de Baltimore. La création d'outils radiologiques a permis de réellesment mettre en évidence et d'étudier le vasospasme au début des années 60. Les effets vasodilatateurs de certaines substances comme la papavérine et la procaine au cours de la chirurgie ont orienté la recherche sur le vasospasme vers des mécanismes nerveux et de contraction des muscles lisses artériels, axant toute une littérature vers la recherche de substances conduisant au vasospasme (éléments figurés du sang, protéines de l'inflammation...) et pouvant en contrepartie le traiter. Cependant, Fisher[29] théorise le concept d'ischémie retardée en découvrant une relation entre la quantité de sang générée par la rupture d'anévrisme et la survenue d'une ischémie retardée. Si les vasospasmes angiographiques sévères (>50%) provoquent presque toujours des ischémies cérébrales, les vasospasmes modérés à minimes ne sont pas corrélés à l'ischémie. De plus, des études plus récentes testant le clazosentan et les statines retrouvent une diminution du vasospasme sans diminuer les ischémies retardées et sans bénéfice sur le pronostic. Depuis les années 80, la recherche sur l'ischémie retardée n'est plus uniquement basée sur le vasospasme angiographique, mais plutôt sur l'interaction de plusieurs processus conjointement en cause dans l'infarctus cérébral après HSA et pouvant comprendre la lésion cérébrale initiale, l'inflammation, les thrombo-embolies de la microcirculation, la dysfonction de l'autorégulation cérébrale ou les ondes corticales envahissantes.

### 1.2.2 Physiopathologie de l'ischémie cérébrale

Les phénomènes menant à l'ischémie cérébrale ne sont pas complètement élucidés. Le vasospasme angiographique (diminution du calibre du vaisseau) est un élément important. Le relargage d'hémoglobine libre et du contenu des globules rouges lors de l'hémolyse est probablement la clé de voute de la production de radicaux libres, de l'inflammation et de la lésion endothéliale[30]. En effet, l'oxyhémoglobine est un composé hautement toxique provoquant une contraction des muscles lisses : soit directement par atteinte des fibres musculaires, soit indirectement par l'action d'agent spasmogène et le déséquilibre entre vasoconstricteur et vasodilatateur. Les travaux sur la vasoconstriction directe ont abouti à deux principaux mécanismes contribuant à la contraction des muscles lisses artériels : l'activation des protéines kinases calcium dépendants (constriction transitoire) et l'aug-

mentation de la protéine kinase C (constriction continue)[31]. L'oxyhémoglobine réagit également avec le NO, diminuant sa concentration locale. Elle stimule la production de radicaux libres et de cytokines, inhibant la synthèse de prostacycline vasodilatatrice, et augmentant la synthèse de prostaglandines vasoconstrictrices (*PGF2 $\alpha$* , TxB2, PGE2)[32] et d'endothéline-1[33, 34]. Le déséquilibre entre les éléments vasoconstricteurs et vasodilatateurs aggravent la vasoconstriction. Récemment, le lien entre inflammation (via COX-2) et l'endothéline-1 a été étudié dans un modèle d'HSA chez le lapin : l'inhibition de COX-2 par le celecoxib a montré une diminution du vasospasme et de l'endothéline-1[34]. Néanmoins, les études sur le clazosentan [35, 36], un antagoniste des récepteurs de l'endothéline n'ont pas mis en évidence de bénéfice sur le pronostic neurologique alors même qu'il diminuait l'incidence du vasospasme. Ces études ont donc remis en question, à la fois le fait que le vasospasme soit l'unique pourvoyeur d'ischémie cérébrale, mais également que ce soit une cible thérapeutique efficace.

D'autre part, plusieurs cascades inflammatoires s'activent au contact de l'oxyhémoglobine : dans des études sur les souris, le niveau du complément activé augmentait dans le liquide céphalo-rachidien. Le retrait du complément dans le LCR diminuait la sévérité du vasospasme[37]. De nombreux biomarqueurs comme le TNF  $\alpha$ /IL-1/IL-6/IL-10/IL-12 sont augmentés dans le sang et dans le LCR lors de l'HSA[38]. Des biomarqueurs élevés sont associés à un mauvais pronostic, mais ne sont pas reliés à la survenue du vasospasme ou du DCI[39]. Les protéines d'adhésion semblent également jouer un rôle important. Dans des modèles murins, l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre ICAM-1, protéine transmembranaire des leucocytes et des cellules endothéliales, diminuait expérimentalement le vasospasme[40].

La constatation d'ischémie retardée n'étant pas totalement expliquée par le vasospasme, de nouveaux concepts ont émergé comme la dépression corticale envahissante. Il s'agit d'ondes très lentes parcourant le cortex qui sont liées à une dysfonction des canaux membranaires (notamment Na et Ca) faisant entrer ces ions au sein du neurone. Or, c'est le gradient ionique entre l'espace extraneuronale et intraneuronale qui permet de générer des potentiels d'action et donc l'activité cérébrale. Les neurones vont alors rester dépolarisés et cette vague de dépolarisation va se propager de proche en proche de façon très lente (environ 2 à 6 nm/min) au sein du cortex. Cette onde lente provoquerait une augmentation du débit sanguin cérébrale dans les territoires concernés et serait accompagnée par une chute de débit dans les territoires les plus distaux conduisant potentiellement à la mort neuronale[41]. Cependant, ces ondes sont très difficiles à mettre en évidence et ont surtout été étudiées chez les rongeurs. Des simulations mathématiques intégrant la complexité de la géométrie de la substance grise chez l'Homme ont montré récemment que ces ondes ne pouvaient se déplacer sur de grandes distances et qu'elles étaient rapidement stoppées par les sillons cérébraux pouvant expliquer la difficulté pour les mettre en évidence[42].

Ce travail s'intéresse particulièrement aux microthrombi dans l'HSA. Plusieurs études autopsiques ont montré des microthrombi multiples associés dans les territoires du vasospasme et du DCI, mais également dans d'autres territoires. Dans le mécanisme de microthrombose, les plaquettes semblent jouer un rôle important, développé dans les prochains paragraphes[43, 17].

### 1.2.3 La difficile question clinique du vasospasme et de l'ischémie retardée

Dans la littérature, le terme « vasospasme » fait référence à des concepts parfois différents tels que l'ischémie cérébrale retardée, la traduction clinique ou l'image radiologique du vasospasme. Cette ambiguïté reflète la difficulté d'établir le diagnostic de vasospasme, mais également de la préoccupation du clinicien à agir avant que l'ischémie cérébrale ne se constitue. Un collègue d'expert[6] a statué en donnant une définition de l'ischémie cérébrale retardée en deux points principaux :

- Un infarctus cérébral identifié au scanner ou en IRM après exclusion d'une autre cause (notamment dû à un embolie lors de la sécurisation de l'anévrisme) dans les 6 semaines après la survenue de l'HSA.
- La survenue de signes neurologiques signant la détérioration clinique.

Cette définition est difficile à utiliser en clinique. La stratégie permettant la suspicion et le diagnostic de vasospasme inclut l'angioscanner, les Dopplers transcrâniens et l'artériographie, avec pour objectif d'éviter l'infarctus cérébral. La difficulté de l'approche par ischémie retardée réside dans le fait que le diagnostic positif se pose a posteriori, après la constatation de l'ischémie cérébrale. Le concept d'ischémie retardée est donc utile en recherche ou dans la prédiction du devenir neurologique de ces patients, mais ne peut être utilisé comme cible d'un quelconque traitement car la lésion cérébrale est déjà constituée. Dans la suite de ce travail, on utilisera :

- Détérioration clinique sans préjuger de la cause pour une diminution de plus de 2 points du score de Glasgow, un trouble de la conscience ou une hémiparésie, aphasie, apraxie, hémianopsie, négligence (signes négatifs) d'une durée supérieure à une heure.
- Ischémie cérébrale pour un infarctus cérébral survenant dans les 6 semaines après l'embolisation de l'anévrisme quelle qu'en soit la cause.
- Ischémie cérébrale retardée (DCI pour Delayed Cerebral Ischemia) pour un infarctus cérébral survenant dans les 6 semaines après la sécurisation de l'anévrisme et dont la cause n'est pas due à l'embolisation.
- Vasospasme aura une définition angiographique signifiant la diminution du calibre artériel. Une diminution de calibre  $>50\%$  est considérée comme sévère, entre 30 et 50% comme modérée[44].

Quels sont les moyens à notre disposition pour prédire l'ischémie retardée et diagnostiquer un vasospasme ?

La prédiction du DCI est essentiellement basée sur la classification de Fisher révisée[45] reposant sur la quantité de sang et la présence ou non de sang dans le système ventriculaire (Annexe A.1). Environ 30% des patients Fisher III ou IV vont évoluer vers un vasospasme, mais en dehors de cette classification, il n'existe pas de biomarqueur capable de prédire avec plus de précision la survenue du vasospasme et de l'ischémie retardée. Une revue[46] de 2016 classe les biomarqueurs candidats selon le mécanisme d'apparition du vasospasme :

- Marqueurs génétiques : polymorphisme dans des gènes régulant le métabolisme du cholestérol[47] ou de l'hémoglobine[48]
- Marqueurs de la lésion cellulaire : produits spécifiques de la dégradation de la spectrine par les calpaïnes[49] (CCSntf et CCSctf : calpain-derived alpha-spectrin N- et

C-terminal fragments), ubiquitine hydrolase UCH-L1, neuron-specific enolase[49] (NSE) et S100B[50].

- Marqueurs de l'inflammation : ICAM-1, VCAM-1[51], TNF[52]
- Marqueurs d'altération du métabolisme : Glutamate, histidine[53] et apolipoprotéine E[54]
- Marqueurs du tonus vasculaire : Endothéline-1[55], calcium[54] et nitrite/nitrate[56] dans le liquide céphalo-rachidien.

Cette revue met en évidence la multiplicité des marqueurs et des mécanismes, associés ou en cause dans le vasospasme et l'ischémie retardée. Néanmoins, aucun de ces marqueurs ne bénéficie à lui seul d'une spécificité et d'une sensibilité lui permettant d'être envisagé comme biomarqueur prédictif en clinique.

## 1.3 Physiologie plaquettaire

Nous détaillons dans cette partie les fonctions plaquettaires avec les séquences menant à l'hémostase primaire, les tests biologiques permettant l'exploration plaquettaire puis les voies impliquées dans les traitements antiplaquettaires, enfin, nous explicitons le profil plaquettaire dans l'HSA rapporté dans la littérature.

### 1.3.1 Les fonctions plaquettaires

Les plaquettes ont un rôle important dans de nombreuses fonctions physiologiques. Si elles ont une place capitale dans l'hémostase et les processus thrombotiques, elles ont également un rôle dans l'homéostasie du tonus vasculaire, dans l'inflammation, dans les réactions de défenses immunitaires ou dans la biologie tumorale (figure 1.1)[57].

Les plaquettes ont un rôle majeur dans l'hémostase primaire, elles forment le clou plaquettaire en cas de brèches vasculaires. Elles sont particulièrement efficaces dans les vaisseaux de petits calibres, car les forces de cisaillement y sont très importantes. En situation physiologique, l'endothélium sécrète des substances anti-thrombogènes, telles que le monoxyde d'azote (NO), la prostacycline et ADPase naturelle (CD39). En cas de lésions de l'endothélium, le contact avec le sous-endothélium qui, lui, est fortement thrombogène, va favoriser la cascade de coagulation permettant l'agrégation plaquettaire. La réalisation du clou plaquettaire est un processus comportant 4 principales étapes séquentielles ou simultanées : l'adhésion, l'activation, la sécrétion et l'agrégation (figure 1.2).

**L'adhésion** des plaquettes au sous-endothélium s'effectue par l'intermédiaire du facteur von Willebrand, fixé sur son récepteur membranaire : la protéine GPIb. Il induit un changement de conformation plaquettaire permettant une fixation au sous-endothélium.

**L'activation** est le pré requis aux autres fonctions plaquettaires et à l'amplification de cette réponse.

Il existe quatre principales voies d'activation via :

- L'ADP médié par les récepteurs P2Y1 et P2Y12, permettant la mobilisation de calcium intracytosolique et d'autre part, conduisant à l'inhibition de l'AMPc. Le rôle de l'AMPc est d'inhiber la libération des granules et donc l'agrégation et l'amplification de la réponse plaquettaire.
- La thrombine, ligand des récepteurs PAR1 et 4.
- Le thromboxane A2 et l'acide arachidonique

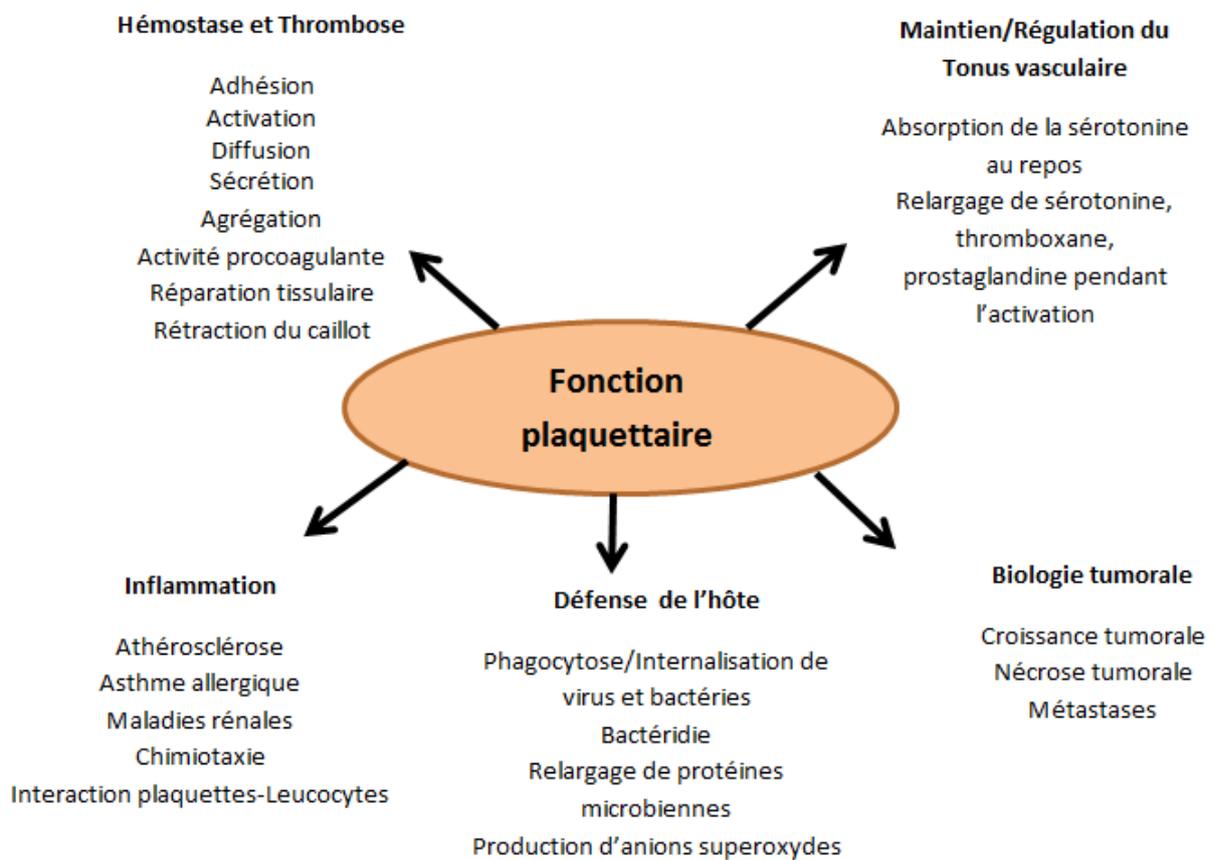


FIGURE 1.1 – Fonctions multiples des plaquettes. D'après Harrison P., Blood Reviews, Volume 19, Issue 2, 2005, 111–123

— Le facteur von Willebrand via les récepteurs GPIb-V-IX, GPV, Ces voies aboutissent à la mobilisation de calcium intracytosolique, à la synthèse de protéines puis à la sécrétion de granules et au changement de conformation de GPIIbIIIa permettant l'agrégation.

**La sécrétion**, il s'agit d'un phénomène actif lié à l'augmentation du calcium dans la plaquette qui produit la libération du contenu des granules par exocytose. Parmi les substances libérées, certaines induisent l'activation d'autres plaquettes : il s'agit d'un phénomène d'amplification.

**L'agrégation** qui résulte du changement de conformation du récepteur GpIIbIIIa puis de la fixation de fibrinogène à ce récepteur permettant la liaison entre les plaquettes.

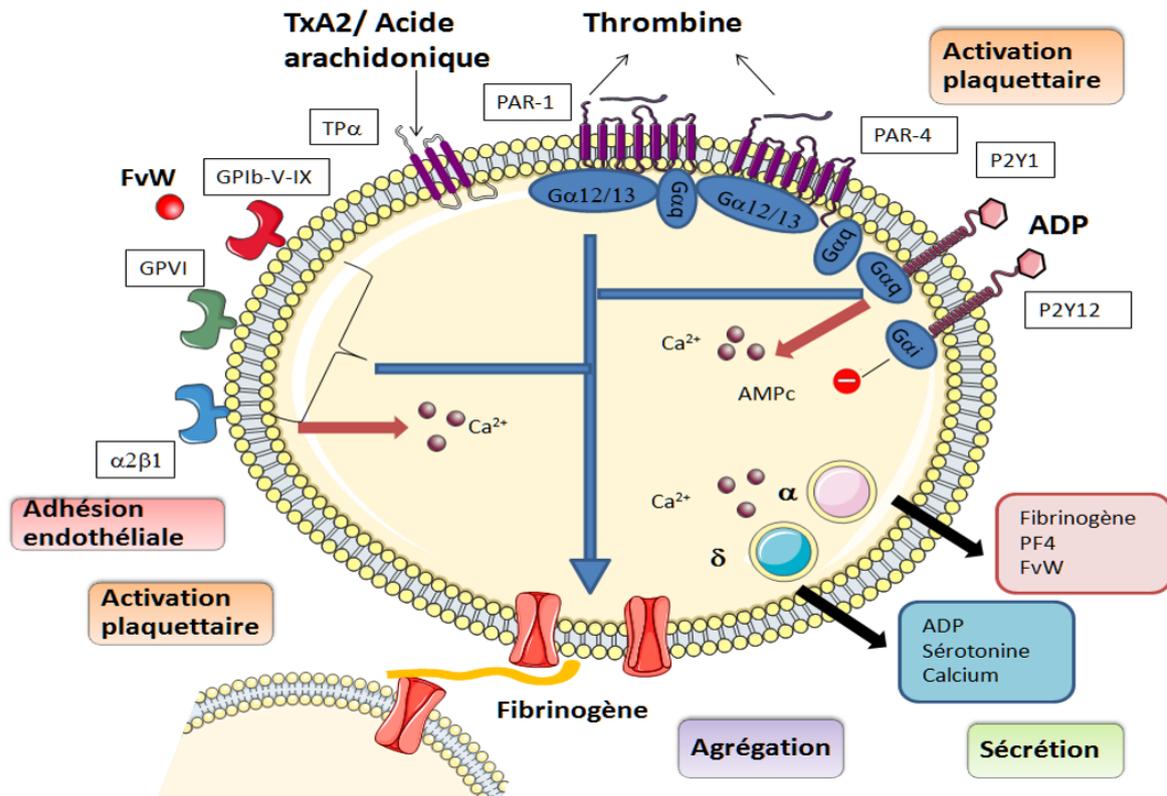


FIGURE 1.2 – Représentation schématique et simplifiée des voies d'activation menant à l'agrégation.

- Les principaux facteurs d'activation plaquettaire sont l'ADP via les récepteurs P2Y1 et P2Y12 (qui conduit à l'inhibition de l'adénylate cyclase), la thrombine, la voie du TXA2/ Acide arachidonique. Chacune de ces voies d'activation aboutit à l'augmentation du calcium intracytosolique et à l'activation plaquettaire incluant la synthèse de protéines, la sécrétion de granules et le changement de conformation du récepteur GpIIbIIIa. La mobilisation du calcium intracellulaire permet la sécrétion du contenu des granules  $\alpha$  (contenant le fibrinogène, le facteur plaquettaire 4 (PF4), le facteur Von Willebrand (FvW)) et des granules denses  $\gamma$  (contenant de l'ADP et de la sérotonine) ce qui amplifie la réponse plaquettaire et active la vasoconstriction. Les granules  $\lambda$  (non figurées) correspondent aux lysosomes, renfermant des hydrolases acides et ayant un rôle dans la lyse des thrombi.
- L'adhésion de la plaquette est activée par la fixation du facteur Von Willebrand au récepteur GPIb-V-IX qui induit un changement de conformation plaquettaire pour permettre une fixation à l'endothélium.
- L'agrégation plaquettaire résulte de l'activation de plusieurs voies de signalisation intraplaquettaire et de la mobilisation calcique aboutissant au changement de conformation du récepteur GpIIbIIIa et à la fixation du fibrinogène qui va lier ainsi les plaquettes entre elles.

### 1.3.2 Les explorations de la fonction plaquettaire

Plusieurs tests plaquettaire sont disponibles, pouvant étudier différentes voies ou fonctions plaquettaire.

Nous décrivons ici les tests utilisés dans notre étude.

#### *Exploration du renouvellement plaquettaire*

La numération plaquettaire permet d'approximer le nombre de plaquettes. Un résultat normal élimine la possibilité de thrombopénie et permet d'assurer que les tests fonctionnels plaquettaire ultérieurs ne vont pas être affectés par une thrombopénie. A l'état physiologique, 70% de la masse plaquettaire extra-médullaire circulent dans le sang avec une durée de vie moyenne de 10 jours, ce qui équivaut à un taux de renouvellement d'environ  $35 \text{ à } 45 \cdot 10^9/\text{L}$  de plaquettes par jour. On mesure, ici, le volume plaquettaire moyen (VPM) et le nombre de plaquettes réticulées. Il s'agit de plaquettes jeunes, équivalentes aux réticulocytes pour les hématies, ces plaquettes contiennent de l'ARNm, représentant un paramètre pour l'estimation de la capacité de régénération des plaquettes. Ces plaquettes réticulées représentent la mesure quantitative de la thrombopoïèse.

#### *Exploration de l'activation plaquettaire*

Le test d'activation plaquettaire in vivo et induite par ADP et TRAP est une analyse par cytométrie en flux de l'expression membranaire de molécules d'activation plaquettaire (CD62P et GPIIb/IIIa). Il constitue une approche fonctionnelle de la réponse plaquettaire à l'état basal et après stimulation à l'ADP et TRAP. GpIIb/IIIa est un récepteur permettant la liaison au fibrinogène à la base de l'agrégation plaquettaire. CD62P est une molécule d'adhésion. L'expression de ces molécules à la membrane des plaquettes marquent l'activation de la plaquette. Ce test objective donc l'état d'activation des récepteurs membranaires et oriente sur la mise en jeu de certaines voies de signalisation[58].

#### *Exploration de l'agrégation plaquettaire*

Test photométrique d'agrégation plaquettaire sur plasma riche en plaquette en présence d'inducteurs tels que l'ADP et l'acide arachidonique (gold standard).

Cette technique mesure l'agrégation d'un plasma riche en plaquettes (PRP), obtenu après centrifugation à faible vitesse de l'échantillon sanguin du patient, prélevé sur citrate de sodium, après addition d'ADP et d'acide arachidonique. Une diminution de l'agrégation plaquettaire induite par l'un de ces agonistes permet d'évoquer une diminution fonctionnelle de la voie d'activation plaquettaire étudiée[59].

Mesure de la protéine VASP phosphorylée, activité dépendant du taux d'AMP cyclique sous la dépendance directe de la voie de signalisation des récepteurs P2Y<sub>12</sub>. La prostaglandine E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) active l'AMPc, tandis que l'ADP inhibe la phosphorylation de VASP via le récepteur P2Y<sub>12</sub> en inhibant l'AMPc. Ainsi, la phosphorylation de VASP (VASP-P) est directement corrélée avec l'inhibition du récepteur P2Y<sub>12</sub>.

PFA100 (Platelet Function Analyzer, temps de saignement in vitro) à l'épinéphrine et à l'ADP. Il s'agit d'un test global d'appréciation de la fonction plaquettaire avec la mesure du temps d'occlusion en conditions de flux d'un opercule calibré. Il correspond au temps nécessaire à l'arrêt de l'écoulement du sang par la formation du clou plaquettaire au niveau de l'orifice de la membrane recouverte de collagène (pour mimer la réactivité d'un vaisseau lésé) et utilise deux voies de préactivation plaquettaire l'une par l'épinéphrine l'autre par l'ADP[60]. Si ce paramètre a été beaucoup étudié en ce qui concerne les thrombopathies, il est moins étudié dans la thrombose.

### *Exploration de la fonction endothéliale*

Dosage du facteur Von Willebrand et du facteur VIII. Le facteur Von Willebrand est synthétisé par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. Des multimères sont créés dans la circulation sanguine qui vont permettre d'initier l'agrégation plaquettaire. En effet dans les capillaires, la présence d'un flux laminaire à l'origine de force de cisaillement, induit la déformation des facteurs Von Willebrand à l'origine d'une agrégation plaquettaire, formant ainsi des thrombus. Ce phénomène est contrôlé par la protéolyse de ces multimères en 2 sous-unités par une protéine nommée ADAMTS 13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type I repeats-13).

### *Exploration de la fibrinolyse*

Le rôle des plaquettes dans la fibrinolyse reste encore à élucider. La plaquette contient certaines protéines qui ont une fonction dans la fibrinolyse. Par exemple, PAI-1, 2-antiplasmine et FXIII sont antifibrinolytiques, tandis que le plasminogène est fibrinolytique. Nous explorons, ici, la fibrinolyse par l'exploration de la génération des D-Dimères à plusieurs temps. Les D-dimères sont des produits de dégradation de la fibrine, constituante principale du caillot sanguin.

## **1.3.3 Les antiagrégants plaquettaires**

Nous rapportons les effets des antiplaquettaires testés dans l'hémorragie méningée sur les différentes voies d'activation plaquettaire (figure 1.3 et table 1.1). Les antiagrégants ont été testés pour une grande majorité dans des cohortes de patients ayant bénéficié du traitement chirurgical de leur anévrisme.

L'aspirine induit une inhibition irréversible de la cyclooxygénase de type 1 par acétylation. Au niveau des plaquettes, cette inhibition bloque la synthèse de thromboxane A2 et inhibe ainsi une des voies de l'agrégation plaquettaire. Comme les plaquettes sont dépourvues de noyau, elles ne peuvent pas resynthétiser la cyclooxygénase, l'effet persiste donc pendant la durée de vie de la plaquette. Trois études randomisées et contrôlées se sont intéressées à la prise de l'aspirine durant l'HSA. Hop[61]étudiait 50 patients traités par 100mg d'aspirine versus placebo pendant 21 jours, Van den Bergh[62], 260 patients traités avec les mêmes doses durant 14 jours et Mendelow[63], 53 patients traités par 600mg d'aspirine + acide tranexamique. Aucune de ces études n'a pu montrer de bénéfice sur le pronostic sans avoir pu démontrer l'augmentation des saignements. Van den Bergh est la seule étude incluant des patients ayant reçu soit un traitement chirurgical (176 patients), soit un traitement endovasculaire. L'étude post hoc[64] ne retrouvait pas d'effet du traitement de l'anévrisme sur le bénéfice ou les complications liés à l'aspirine. En prophylaxie primaire, l'aspirine n'est pas non plus recommandée. Dans une étude[65] de 747 patients présentant un anévrisme, la prise d'aspirine au long cours diminuait le taux d'hémorragie méningée, elle n'avait pas d'impact sur le grade clinique ou radiologique, le vasospasme et le pronostic de l'HSA.[63] Le clopidogrel, prasugrel, ticlopidine sont tous des antiplaquettaires interagissant avec le récepteur P2Y12, le clopidogrel et le prasugrel sont des inhibiteurs irréversibles de P2Y12 alors que le ticlopidine est un inhibiteur réversible. Seul le ticlopidine a été étudié dans l'HSA. Il s'agissait d'une étude[66] s'intéressant à 135 patients, 66 étaient traités par ticlopidine 300mg pendant 2 semaines et 69 recevaient le placebo. Il s'agit de la seule étude retrouvant un bénéfice significatif d'un antiagrégant

plaquettaire à la fois sur le pronostic (p-value=0.37 [0.14;0,98]) et sur l'ischémie retardée (p-value=0.39 [0.17; 0.86]).

L'ozagrel (OKY-046) est un médicament commercialisé uniquement au Japon et en Chine et parfois utilisé comme traitement vétérinaire. Il s'agit d'un inhibiteur sélectif de la thromboxane A2 (TXA2) synthase. Il empêche la conversion de PGH2 (prostaglandine endoperoxide H2) en TXA2. La réduction de la synthèse de TXA2 se fait principalement dans des plaquettes, régulant la production de TXA2 et, par conséquent, l'équilibre TXA2/PGI2. Le but étant de diminuer l'effet pro-thrombotique et vasoconstricteur du thromboxane. 2 études s'intéressaient à ce traitement. La première[67], incluait 48 patients dans 3 groupes : placebo vs 80mg d'OKY-046 vs 400mg d'OKY-046 pendant 10 à 14 jours après la chirurgie. La seconde[68], 24 patients dans 2 groupes : OKY-046 IVSE à 1µg/kg/min vs placebo durant 14 jours. Ces études retrouvaient un bénéfice en termes de vasospasme et d'ischémie retardée sans bénéfice sur le pronostic avec une tendance aux saignements dans la seconde étude.

La milrinone est un inhibiteur de la phosphodiesterase III qui diminue le taux d'AMPc intracellulaire avec une augmentation des performances ventriculaires et de la vasodilatation. Une étude a montré que l'augmentation d'AMPc intéresse également la plaquette et inhibe l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP et l'acide arachidonique[69]. La milrinone a plusieurs fois été investiguée dans l'HSA, mais sans étude sur la fonction plaquettaire.

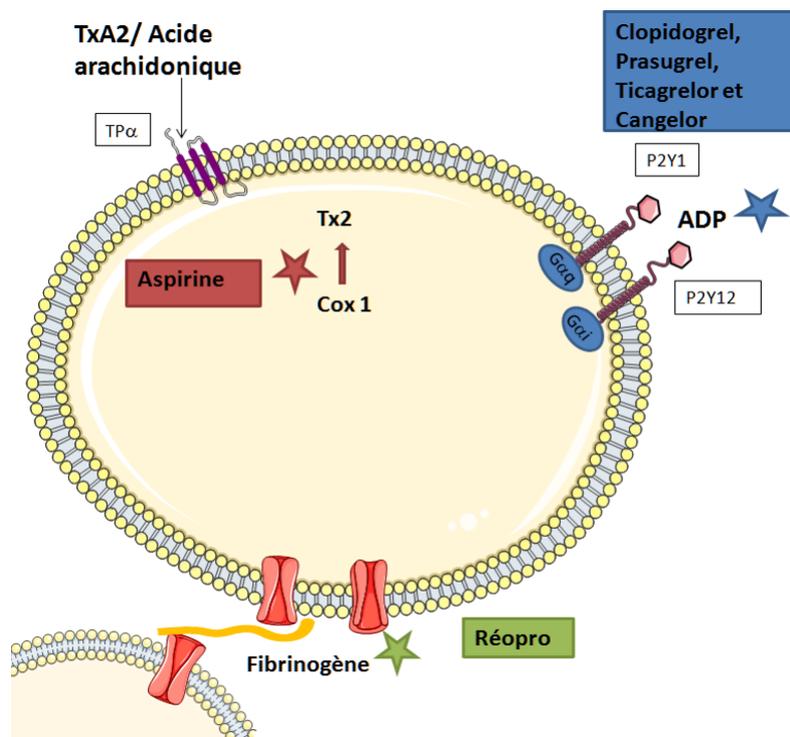


FIGURE 1.3 – Schéma simplifié des voies impliquées par les antiplaquettaires

Finalement, il s'agit d'études avec de petits effectifs, concernant en très grande majorité, des patients avec un traitement chirurgical. La chirurgie avait lieu par rapport au début des symptômes souvent de façon très tardive (entre 4 et 9 jours). Il est difficile de

Récepteurs	Ligands	Molécules inhibitrices	Mécanismes inhibiteurs
P2Y <sub>12</sub>	ADP	clopidogrel prasugrel <b>ticlodipine</b> cangrelor	antagoniste inhibiteurs compétitifs
$\alpha 2b\beta 3$	Fibrinogène	abciximab	anticorps monoclonal
$TP\alpha$	TxA <sub>2</sub>	<b>aspirine</b> <b>OKY-046</b>	inhibition de la synthèse de TxA <sub>2</sub>

TABLE 1.1 – Les différents antiplaquettaires et leur mécanismes inhibiteurs. Les molécules déjà testées dans l’HSA sont en rouge.

juger de la gravité des patients, en effet, la plupart des études utilisent le grade de Hess et Hunter sans utiliser la classification de Fisher. De plus, les examens utilisés pour mettre en évidence le vasospasme et l’ischémie retardée ont beaucoup évolués avec notamment les techniques d’angiographie et l’IRM, permettant probablement de poser plus souvent le diagnostic positif.

### 1.3.4 Profil plaquettaire et hémostasie primaire dans l'hémorragie méningée

Les études animales montrent une activation de l'agrégation plaquettaire[19] ainsi qu'une dégradation de l'activité anti-agrégante des cellules endothéliales par l'hémorragie méningée (diminution de la synthèse de la prostaglandine [PG] I<sub>2</sub> et de l'endothélium derived relaxing factor) qui pourrait être en cause dans le vasospasme[70, 71].

Les études chez l'Homme sont rapportées dans la table 1.2, d'après une revue de la littérature de 2015 portant sur l'hémostasie primaire dans l'hémorragie méningée[72]. Ces études concernent en général de petits effectifs, dans une population HSA majoritairement dans un contexte chirurgicale. Elles sont principalement construites en contrastant les patients évoluant ou non vers un vasospasme. Elles retrouvent une activité plaquettaire importante non-différente entre les patients avec ou sans vasospasme et une agrégation importante chez les patients présentant un vasospasme. De la même façon, le thromboxane B<sub>2</sub> (vasoconstricteur) est augmenté ainsi que le facteur von Willebrand avec une diminution de l'ADAMTS 13. On retrouve une augmentation du facteur d'activation plaquettaire couplée à une augmentation du PF4 pouvant à la fois entraîner une agrégation plaquettaire et pouvant également favoriser l'interaction avec les leucocytes.

Etudes	Effectifs	Contexte	Marqueurs étudiés	Principaux résultats
Juvela[73]	49 patients	Cohorte chirurgicale, majoritairement grade II	TBxB2	Pas de différence d'agrégation entre vasospasme ou non. TBxB2 élevé en cas de vasospasme.
Juvela[18]	88 patients, 23 contrôles	Cohorte chirurgicale grade II ou III, 70% de chirurgie >4 jours	Agrégation à l'ADP et TBxB2	J3 : diminution agrégation et TBxB2 par rapport aux contrôles. Après chirurgie : augmentation agrégation et TBxB2 8/12 DCI avec agrégation et TBxB2 particulièrement élevés
Hirashima[74]	32 patients	Majoritairement grade II et III, Fischer 2 et 3	PAF et FVW	PAF augmente entre J5 et J14 particulièrement dans le vasospasme mais pas dans le DCI. Augmentation plus importante du FVW chez les DCI
Fujii[75]	117 patients	Cohorte chirurgicale Grade 1 à 5	Agrégation D-dimère fibrinogène	Pas de différence d'agrégation, D-Dimère/Fg augmentés chez les DCI par rapport aux non DCI.
Ohkuma[71]	13 patients	Grade II ou III avec 5 VS+ (3 avec chirurgie à J3 et 2 à J15 et J28)	Prélèvements jugulaire et périphérique Agrégation thromboglobuline TBxB2	Augmentation de tous les paramètres à partir de J5 chez les patients avec vasospasme.
Vinge[76]	24 patients	Traitement chirurgical <72h	TXB2	Bas ou normal entre J1 et J15.
Vergouwen[77]	31 patients	24 avec traitement angiographique 7 patients avec traitement chirurgical	ADAMTS13, FVW antigène, propeptide FVW et activité cofacteur ristocétine du FVW	Diminution de l'ADAMTS 13 et augmentation du FVW plus importants chez les DCI.
Niikawa[78]	103 patients	35 avec vasospasme 8 sans vasospasme la majorité Fisher 3	Numération plaquettaire	Numération plaquettaire plus élevée chez les VS+

TABLE 1.2 – Résumé des études chez l'Homme étudiant la fonction plaquettaire et l'hémostase primaire dans l'HSA anévrysmale..

## 1.4 Conclusion

À la lumière de l'Histoire portant sur la découverte du vasospasme et de l'ischémie retardée, on comprend que le vasospasme soit défini de façon radiologique et plus précisément d'un point de vue artériographique.

Les mécanismes menant à l'ischémie retardée sont incomplètement compris. Le point de départ est probablement la lyse des caillots de sang dans l'espace sous-arachnoïdien conduisant à la sécrétion de substance vasoconstrictrice menant aux vasospasmes. Cependant, d'autres facteurs sont mis en cause : l'inflammation, les ondes corticales envahissantes et peut-être également une hyperagrégation plaquettaire menant à la formation de microthrombi et favorisant le vasospasme.

De nombreuses études ont retrouvé des troubles de la fonction plaquettaire au cours de l'HSA néanmoins peu se sont intéressées aux voies d'activation plaquettaire. De plus, les études sur les antiplaquettaires et la fonction plaquettaire, ont été en grande partie faites chez des patients ayant bénéficiés d'un traitement chirurgical à la phase initiale de l'HSA. On peut donc raisonnablement penser que l'étude de la fonction plaquettaire et l'activité des antiagrégants soient différentes chez des patients avec un traitement endovasculaire de leur anévrisme.

Nous avons donc construit une étude s'intéressant à la fonction plaquettaire dans l'HSA dans une cohorte de patients ayant bénéficié d'un traitement endovasculaire de leur anévrisme. Nous nous intéressons particulièrement à l'activation, l'agrégation et la fonction endothéliale. Il nous a paru important d'étudier ces paramètres chez les patients ayant développé ou non une ischémie retardée. Dans un autre temps, le profil d'hyperagrégation plaquettaire chez les patients atteints d'une HSA, nous a conduit à les comparer à des patients d'orthopédie. En effet, ces patients se compliquent fréquemment de thromboses avec un profil d'hyperagrégabilité plaquettaire qui est bien étudié.

Notre principale hypothèse est qu'il existe une hyperactivation et une hyperagrégation chez les patients HSA, mais plus importante chez les patients développant une ischémie retardée. Nous tentons de mettre en évidence les voies d'activation plaquettaire préférentielles et d'étudier le niveau d'activation de l'endothélium. Nous postulons que le niveau d'activation et d'agrégabilité plaquettaires chez les patients HSA est proche de patients à fort risque de thrombose (patients en post opératoire d'une chirurgie orthopédique).

# Partie 2

## Matériels et méthodes

### 2.1 Populations étudiées

Les patients sont inclus dans le service de réanimation chirurgicale de l'hôpital universitaire Lariboisière (Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Pr Payen) entre 2014 et 2016.

Après avis du comité d'éthique (CE SRLF 14-25), les patients HSA étaient inclus en réanimation chirurgicale dans les 5 jours suivant la date présumée du début de l'hémorragie méningée secondaire à la rupture d'anévrisme. Une artériographie des quatre axes initialement pour le diagnostic et pour le traitement de l'anévrisme est effectuée dans les premières heures suivant l'admission. Les patients étaient sélectionnés sur le risque élevé du vasospasme selon la classification de Fisher 3 et 4 en termes de quantité de sang dans l'espace sous arachnoïdien. Il n'y avait aucun impact des résultats de l'étude sur la prise en charge des patients.

Les critères d'exclusion pour le groupe HSA étaient l'âge inférieur à 18 ans, la grossesse, un saignement anévrysmal initial antérieur à 5 jours, une craniotomie ou craniectomie chirurgicale récente, la prise de traitement anticoagulant, antiagrégants plaquettaire ou anti-inflammatoires dans les 10 jours précédant l'inclusion ainsi que la transfusion de produits sanguins (culot globulaire, plasma frais congelé ou concentré plaquettaire), du fait de la modification de la fonction plaquettaire.

Les résultats des patients HSA ont été comparés à ceux de patients en postopératoire d'une chirurgie orthopédique programmée pour prothèse totale de genou ou de hanche (groupe Postop) après recueil du consentement éclairé en pré-opératoire. Tous les patients étaient traités par Dabigatran (antithrombine II) ou par Apixaban (anti-Xa). Il a été considéré que ces deux types de médicaments n'interféraient pas avec la fonction plaquettaire[79, 80]. Les critères d'exclusions pour le groupe Postop étaient l'âge < 18 ans, la grossesse, la prise d'antiagrégants plaquettaire ou anti-inflammatoires ainsi que la transfusion de produit sanguin (culot globulaire, plasma frais congelé ou concentré plaquettaire).

## 2.2 Prise en charge des patients HSA et dépistage du vasospasme

À leur arrivée, tous les patients du groupe HSA ont bénéficié d'une artériographie des quatre axes, sous anesthésie générale. L'artériographie avait pour but une exclusion de l'anévrisme. Contrairement à la prise en charge rapportée dans les cohortes nord-américaines, le recours à la neurochirurgie pour clipper l'anévrisme est devenu peu fréquent et le traitement endovasculaire facilité par l'accessibilité aux plateaux techniques de neuroradiologie interventionnelle. Une pose de DVE était indiquée par la présence de sang dans les ventricules, associée à une hydrocéphalie. En post-interventionnel, les sédations étaient arrêtées le plus tôt possible (absence d'HTIC et contrôle des ACSOS) pour permettre une évaluation neurologique et le sevrage précoce de la ventilation mécanique. Tous les patients ont reçu une prévention de l'ischémie cérébrale retardée par la nimodipine per os ( $60\text{mg}\cdot 6/\text{j}$ )[20].

Pour le dépistage du vasospasme précoce, les patients bénéficiaient d'une évaluation neurologique et de Dopplers transcrâniens pluriquotidiens[81]. En cas d'aggravation neurologique ou d'accélération des vitesses cérébrales au Doppler transcrânien, définie par des vitesses moyennes  $>120\text{ cm/sec}$ , un vasospasme était suspecté.

Dans la littérature, cette approche permet de diagnostiquer un vasospasme grave avec 95% de sensibilité[81] mais en pratique, elle est rarement répliquée, car elle réclame une expertise importante de l'opérateur[82]. Le diagnostic était donc confirmé par angioscanner avec séquence de perfusion. Plusieurs études montrent une bonne corrélation entre l'artériographie et l'angioscanner avec une valeur prédictive négative entre 95 et 99,5%[83]. Le principal risque de cette technique est de surestimer le spasme du vaisseau et de surdiagnostiquer des vasospasmes. En cas de vasospasme confirmé sur l'angioscanner, une artériographie était pratiquée pour le traitement du vasospasme. Dans notre centre, la prise en charge s'articule afin de tenter de poser un diagnostic précoce du vasospasme (avant l'ischémie cérébrale) et d'agir en amont avec une stratégie invasive en privilégiant l'approche endovasculaire. En cas de suspicion confirmée de vasospasme avec une conséquence hémodynamique, une dilatation chimique (nimodipine ou milrinone[84]) ou mécanique (dilatation par ballon) était pratiquée. Chez certains patients qui avaient un vasospasme évalué à 50% du diamètre initial à l'angiographie, un traitement IVSE par milrinone (inhibiteur de la phosphodiesterase-3) était débuté à la posologie de  $1-1,5\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ [84]. Le diagnostic d'ischémie retardée (delayed cerebral ischemia, DCI) était défini par une ischémie cérébrale identifiée en TDM cérébrale ou en IRM après exclusion d'un infarctus lié à la procédure en neuroradiologie interventionnelle[6]. Dans certains cas, l'ischémie cérébrale était attribuée à la procédure intravasculaire initiale lors du traitement de l'anévrisme. Par ailleurs, nous avons relevé les infections secondaires en utilisant les critères classiques de CDC Atlanta[85], comme cause d'inflammation pouvant augmenter l'activation et l'agrégation plaquettaire et interférer dans l'analyse des résultats.

## 2.3 Prélèvements et dosages biologiques

Les analyses plaquettaires étaient effectuées à partir de sang prélevé sur tube EDTA (pour les analyses fonctionnelles et de cytométrie en flux) et tube sec. Les prélèvements étaient effectués les 5e et 10e jours dans le groupe HSA afin d'étudier la cinétique de

la fonction plaquettaire. Les prélèvements étaient interrompus si le patient sortait de réanimation. La sortie de réanimation impliquait que le risque de vasospasme ait été écarté. Les prélèvements étaient effectués le plus souvent à partir de cathéters artériels ou veineux placés dans le cadre de la prise en charge classique de ces patients qui présentent des épisodes d'HTA sévères, des dysnatrémies et nécessitent une surveillance de la volémie. En l'absence de cathéter, le prélèvement était effectué lors de la prise de sang quotidienne de ces patients pour la surveillance de routine. Chez les patients Postop, le prélèvement a lieu à J1 post-chirurgie.

Les tests permettant de la fonction plaquettaire incluaient :

- Exploration de l'activation plaquettaire : l'expression de GpIIbIIIa et CD62P après stimulation par ADP et TRAP, et la mesure de la protéine VASP phosphorylé
- Agrégation plaquettaire : le test d'agrégation sur plasma riche en plaquette à l'état basal puis stimulé par l'ADP et l'acide arachidonique, et le test plus global par PFA100
- Exploration de la fibrinolyse par la génération thrombine et la génération DDimères.
- Exploration de l'endothélium : dosage du facteur VIII et du facteur von Willebrand
- Marqueurs d'inflammation : leucocytes, numération plaquettaire et dosage du fibrinogène.

## 2.4 Description des dosages

Les prélèvements sanguins des patients HSA étaient faits à deux temps de l'évolution : l'un précoce (J5) et l'autre tardif (J10, au pic d'incidence du vasospasme).

Outre les numérations leucocytaires et plaquettaires, l'intensité de l'inflammation systémique a été faite par le dosage du fibrinogène, réalisé selon la méthode de Clauss. Cette technique consiste en l'évaluation chronométrique en présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation du plasma dilué étant proportionnel à la quantité de fibrinogène plasmatique (dispositif automatisé, Diagnostica Stago, Asnière, France). Il n'a pas été effectué de dosage de la Protéine C réactive (CRP) qui n'était pas effectuée en routine dans le service.

Concernant l'activation, nous avons effectué un dosage des glycoprotéines alphaII-beta3 (GpIIbIIIa) et du CD62P (P-sélectine) par cytométrie en flux (Becton Dickinson, Mountain View, CA) en condition basale (sans inducteur) et après stimulation par Adénosine diphosphate (ADP) ou par Peptide activateur de récepteur de thrombine (TRAP). L'activation plaquettaire suivant la voie ADP P2Y12 pour la phosphorylation de la phosphoprotéine V stimulée (VASP) a été évaluée par cytométrie en flux et l'index VASP a été calculée par la médiane de l'intensité de fluorescence des échantillons incubés avec ou non de l'ADP.

Nous avons utilisé l'exploration globale de la fonction plaquettaire avec le PFA 100 via le platelet function analyzer-100tem (PFA100, Dade-Behring International, Miami, FL, USA). Le sang est exposé à l'ADP et à l'épinéphrine (EPI), substances activant les plaquettes, puis il est aspiré à travers un tube dont la paroi est recouverte de collagène, favorisant la liaison des plaquettes. On calcule alors un temps d'occlusion, marqueur de

la fonction plaquettaire. L'agrégation plaquettaire est un test pratiqué sans et avec agonistes : ADP  $0.6 \mu\text{M}$  et acide arachidonique  $0.2 \text{ mg/mL}$ . Sur un échantillon de sang citraté, centrifugé à  $200\text{g}$  pendant 10 minutes à température ambiante pour obtenir un plasma riche en plaquette. C'est sur plasma riche en plaquette qu'est fait le test d'agrégation par méthode par turbidimétrie sur Chronolog Aggregometer (Beckman Coulter). L'agrégation est induite par l'addition de  $0.6 \mu\text{M}$  d'ADP ou par  $0,2\text{mg/mL}$  d'acide arachidonique (Sigma, Lyon, France). Le résultat est exprimé en pourcentage d'agrégation représentant l'intensité maximale.

La fonction endothéliale est explorée par la mesure du facteur VIII et FvW plasmatique. Elle est mesurée par méthode ELISA (Asserachrom).

## 2.5 Comité d'éthique

Ce projet d'étude non interventionnelle est basé sur l'analyse de données biologiques relatives au risque thrombotique, sans conservation de matériel biologique, chez des patients hospitalisés en réanimation ayant une hémorragie méningée ou en post-opératoire d'une chirurgie orthopédique pour prothèse de genou ou prothèse de hanche. L'information et le consentement ont été recherchés, auprès de la famille, ou du patient lui même, s'il était en mesure de comprendre l'information donnée. Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique de l'hôpital Lariboisière (CE SRLF 14-25).

## 2.6 Analyse statistique

Cette étude est une étude prospective exploratoire pilote. Etant donné le manque de données dans la littérature, nous avons décidé de commencer l'analyse avec un effectif arbitrairement fixé à 12 patients dans la cohorte HSA et 6 patients dans la cohorte Postop. Dans un premier temps, nous avons décidé de représenter les résultats de façon qualitative, à partir d'une heatmap. Il s'agit d'une représentation graphique faisant correspondre un paramètre à une couleur par rapport aux valeurs normales. Plusieurs comparaisons sont effectuées : au cours du temps entre les prélèvements précoces ( $<J5$ ) et les prélèvements tardifs ( $>J10$ ) et entre les patients ayant ou non développés une ischémie retardée. Les variables quantitatives recueillies sont exprimées en médiane (25e et 75e percentiles). La normalité de la distribution ainsi que l'homogénéité des variances n'étant pas réalisées et les effectifs étant de petites tailles, les comparaisons entre les groupes sont réalisées à l'aide de tests non-paramétriques (test de Man-Whitney). L'analyse est appariée pour la comparaison entre J5 et J10, elle est non appariée pour la comparaison entre DCI et noDCI. Une p-value est considérée comme significative à 0,05. Du fait du petit échantillon, on note comme une tendance une p-value à 0.1 Les boîtes à moustaches représente, pour la boîte, le 1er et 3eme quartile, et pour les moustaches, les valeurs extrêmes. L'ensemble des statistiques est réalisé sur R version 3.2.

# Partie 3

## Résultats

### 3.1 Description de la population

#### 3.1.1 Pour les patients HSA

Douze patients avec une HSA ont été inclus dans l'étude (détails pour chaque patient en annexe B.1). La description de ces patients est résumée dans la table 3.1. Sur ces 12 patients, 5 ont eu une dérivation ventriculaire externe pour une hydrocéphalie. Six patients avaient des troubles de la conscience d'emblée ayant conduit à une intubation et à une ventilation mécanique prolongée (supérieure à 48h). Chez 8 patients, l'apparition de signes neurologiques et/ou une accélération des vitesses aux Dopplers transcrâniens ont fait suspecter un vasospasme. Le vasospasme a été confirmé chez 5 de ces patients (VS+) par angioscanner puis par artériographie. Tous ces patients ont été traités par angioplastie mécanique et 2 ont eu en plus une dilation chimique par nimodipine pour des vasospasmes de localisation plus distale. En raison d'un vasospasme supérieur à 50%, 4 patients ont été traités par milrinone IVSE (inhibiteur de la phosphodiesterase 3, posologie :1-1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). L'évolution a permis de caractériser une ischémie cérébrale chez 2 patients à 6 semaines en lien avec l'embolisation et une ischémie retardée chez 4 patients (DCI).

Cinq patients ont présenté une infection secondaire (3 pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, 1 pneumopathie d'inhalation et 1 infection dentaire), dont 2 dans le groupe VS+ et DCI.

#### 3.1.2 Pour les patients d'orthopédie

Le détail de la description des patients du groupe Postop sont détaillés dans la table B.2. Six patients ont été inclus dont 2 patients avec une PTH et 4 patients avec une PTG. Le prélèvement chez ces patients a eu lieu à J1-3 de la chirurgie. Ces patients avaient une anticoagulation efficace par Eliquis ou Pradaxa selon les recommandations (sauf 1 patiente qui a reçu du Lovenox dans le contexte d'une ACFA pré-existante).

	HSA (n=12)	DCI (n=4)	noDCI (n=8)
Age (années)	56 [47 ;60]	55 [51 ;60]	58 [47 ;60]
Sexe (femme)	9/12 (75%)	4 (100%)	5 (62%)
WFNS	2 [1 ;5]	1 [1 ;5]	2 [1.5 ;4.5]
Fisher III	2 (17%)	0	2 (25%)
Fisher IV	10 (83%)	4	6 (75%)
Nombre d'artériographie	2	4	1
GOS	4.5 [4 ;5]	4 [3 ;5]	5 [4 ;5]

TABLE 3.1 – Résumé des caractéristiques des patients HSA, avec une ischémie retardée ou sans ischémie retardée. DCI= Delayed Cerebral Ischemia, noDCI=no Delayed Cerebral ischemia, GOS=Glasgow Outcome Scale à 6 mois. Les résultats sont exprimés en médiane, 3eme et 4eme quartile ou en nombre de patients.

## 3.2 Comparaison entre les dosages à J5 et J10

Les résultats sont résumés dans la table 4. Nous détaillons le profil de l'hémostase primaire pour chacun des patients dans la figure 4. Le nombre de plaquettes était dans les normes aux 2 temps, on note néanmoins une augmentation entre J5 et J10. Le nombre de leucocytes et le dosage du fibrinogène étaient élevés. Ces marqueurs sont en faveur d'une inflammation qui augmente au cours du temps.

Les plaquettes avaient une expression importante de GpIIbIIIa et de P-Selectine à l'état basal et après stimulation par l'ADP et TRAP. L'expression de GpIIbIIIa stimulée par l'ADP diminuait significativement au cours du temps. La voie de l'ADP, étudiée par l'index VASP, était similaire à J5 et J10 mais plus élevée que les valeurs normales.

Il existait une agrégation plaquettaire importante particulièrement quand elle était initiée par l'ADP. Elle n'était pas significativement différente au cours du temps. L'agrégation se maintenait après 6 minutes. On observe une agrégation plaquettaire spontanée que nous n'incluons pas dans ces analyses. Le PFA 100 stimulé par l'ADP et l'épinéphrine tend à augmenter avec le temps.

Le dosage plasmatique du facteur VIII et l'activité du facteur Von Willebrand étaient plus élevés que les valeurs normales. Le facteur VIII augmentait entre J5 et J10. La génération D-dimère, exprimée en AUC était très élevée chez les patients HSA (AUC=67469,25 [1372 ;6260], mesurée seulement à J5).

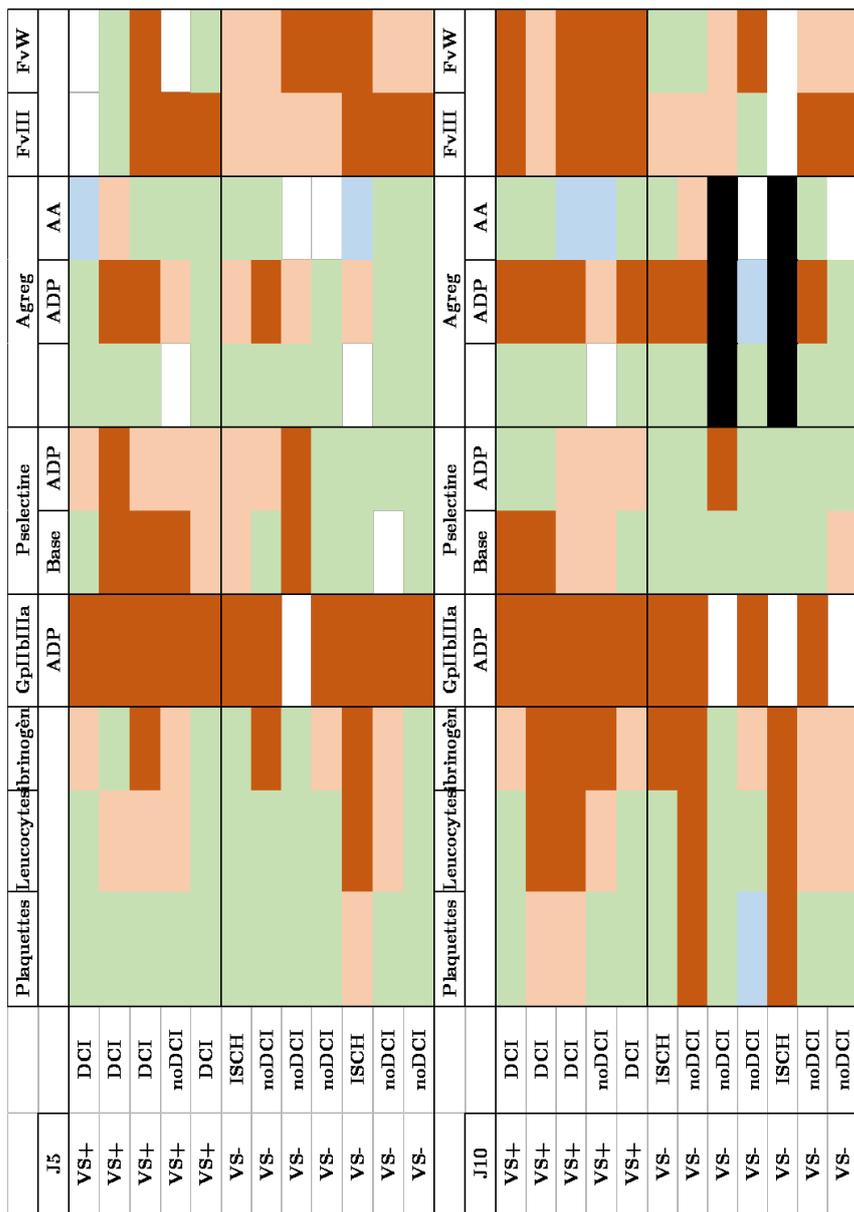


FIGURE 3.1 – Heatmap représentant les paramètres de l'hémostase primaire pour chacun des patients à J5 et J10. Les cases en vert correspondent aux valeurs normales, les cases en orange clair à une augmentation de 20% par rapport à la normale, les cases en orange foncé à une augmentation >20%, en bleu pour les diminutions par rapport aux valeurs normales. Les cases vides correspondent aux valeurs manquantes, en noir= agrégation spontanée, BASE= valeur basale sans réactif.

	Prélèvement précoce (J5)		Prélèvement tardif (J10)		P-value	Valeurs normales
	médiane	<i>quartile</i>	médiane	<i>quartile</i>		
Plaquettes (10 <sup>9</sup> /L)	244	[224 ;368]	380	[272 ;511]	0.03**	[150 ;450]
Leucocytes (10 <sup>9</sup> /L)	9.8	[7.8 ;12,2]	11.1	[8.5 ;14,5]	0.2	[4 ;10]
Fibrinogène (g/L)	5.0	[3.9 ;6.8]	5.8	[5.1 ;6,9]	0.5	[2 ;4]
FVW (%)	190	[173 ;235]	243	[190 ;282]	0,05**	[50 ;150]
FVIII (%)	300.0	[210 ;362]	190.0	[173 ;232]	0.15	[50 ;150]
GpIIbIIIa (nb of sites)						
<i>basal</i>	16618	[14174 ;18246]	16450	[15580 ;17980]	1	-
<i>ADP</i>	30702	[29347 ;33832]	28927	[26458 ;32500]	0.03**	-
<i>TRAP</i>	30062	[27375 ;31713]	30526	[28164 ;31817]	0.4	-
P-Selectin (% of cells)						
<i>basal</i>	6	[4 ;8.5]	5	[2 ;8]	0.9	<5
<i>ADP</i>	82	[62 ;83]	71	[63 ;73]	0.3	[60 ;70]
<i>TRAP</i>	90	[89 ;93]	90	[85 ;90]	0.5	>75
Index VASP (%)	84	[72 ;85]	83	[62 ;86]	0,6	>50
Agrégation (%)						
<i>ADP0.6</i>	29	[22 ;46]	52	[34 ;88]	0.3	[14 ;25]
<i>AA0.5</i>	82	[76 ;86]	89	[46 ;95]	0.9	[85 ;96]
PFA 100 (sec)						
<i>ADP</i>	117	[101 ;148]	130	[105 ;256]	0.1*	[71 ;118]
<i>EPI</i>	87	[64 ;106]	100	[76 ;145]	0.09*	[85 ;165]

TABLE 3.2 – Comparaison entre paramètres inflammatoires, d’activation et d’agrégation chez les patients du groupe HSA à J5 (précoce) et à J10 (tardif). HSA : hémorragie sous arachnoïdienne, FVW : facteur von Willebrand, ADP : adenosine diphosphate, TRAP : thrombin receptor activating peptide, VASP : vasodilator-stimulated phosphoprotein, ADP 0.6 : adenosine diphosphate at 0.6 M, AA : arachidonic acid à 0.5M, PFA : platelet function analyzer, Epi : epinephrine, FVIII= facteur VIII. Les valeurs sont présentées en médianes (2575 percentiles), l’analyse utilise un test de Mann Whitney apparié. \* :p-value<0.1, \*\* :p-value=0.5

### 3.3 Fonction plaquettaire et hémostasie durant la période à risque de vasospasme

Nous nous sommes intéressés au lien entre la fonction plaquettaire et l'ischémie retardée durant la période de vasospasme (prélèvement à J10). Nous avons comparé les résultats de fonction plaquettaire chez 4 patients DCI et 7 patients noDCI à J10 quand le fait d'avoir eu ou non un vasospasme est clairement établi. Nous rapportons également les 2 patients avec l'ischémie cérébrale due à la sécurisation de l'anévrisme. L'expression de GpIIbIIIa était similaire dans les groupes DCI et noDCI (figure 3.2). En revanche, l'expression de la P-sélectine, bien qu'étant similaire dans les 2 groupes, semblait plus étalée chez les DCI (figure 3.2). Cette constatation se confirmait lorsque les plaquettes étaient stimulées par de l'ADP (figure 3.2).

L'index VASP était similaire dans les deux groupes, avec des valeurs normales. On note que l'index VASP dans le groupe DCI était diminué par rapport au groupe noDCI (57% [43;71] et 83% [70;86] respectivement,  $p=0.30$ ). Le seul patient DCI qui n'était pas traité par milrinone avait également un index VASP abaissé.

L'agrégation plaquettaire en réponse à l'ADP était très élevée chez les DCI et les noDCI, sans différence entre les deux groupes (noDCI : 61% [26;93], DCI : 52% [50;69],  $p=0.90$ ) alors que l'agrégation plaquettaire en réponse à l'acide arachidonique était normale dans les 2 groupes (DCI : 71% [76;86], noDCI : 84% [72;91],  $p=0.90$ ). Il est à noter que le nombre de plaquettes immatures tendait à être plus élevé chez les patients DCI que chez les patients noDCI (DCI= 15,8 [15,4 ; 16,2] ; noDCI=10,8 [5,6;15,3],  $p=0.20$ ) mais le volume plaquettaire moyen était similaire (DCI=6,6 [6,5 ; 7,5] ; noDCI=8 [7 ; 8,4],  $p=0,5$ ). Le temps d'occlusion, explorée par le PFA 100, était équivalent chez les noDCI et les DCI aussi bien en réponse à l'ADP, qu'en réponse à l'épinéphrine (PFA Epi= DCI : 137 [128 ; 183] ; noDCI : 93 [77 ; 144],  $p=0.44$  / PFA ADP : DCI : 93 [77 ; 144] ; noDCI : 99 [76 ; 186],  $p=0.60$ ).

A J10, le dosage du FVIII et le FVW activé étaient augmentés par rapport au premier dosage à J5, les valeurs tendaient également à être plus élevées chez les DCI que les noDCI (FvW= DCI : 305 [301;323] ; noDCI : 174 [155;222],  $p=0,1$  / FVIII= DCI : 310 [254; 368] ; noDCI : 213 [188;240],  $p=0.08$ ). Si on compare ces 2 marqueurs à J5 et J10, le facteur VIII était déjà élevé à J5 chez les patients DCI. Pour le FVW, il diminuait chez 5/7 noDCI entre J5 et J10 alors qu'il augmentait chez les DCI. Il est à noter que l'un des 2 patients noDCI, qui avait un FVW qui augmentait entre J5 et J10, présentait une ischémie cérébrale liée à l'embolisation. Lorsqu'on reliait les valeurs de FVW et FVIII aux GOS, il ne semblait pas y avoir de seuil permettant de prédire un mauvais outcome (figure 3.3).

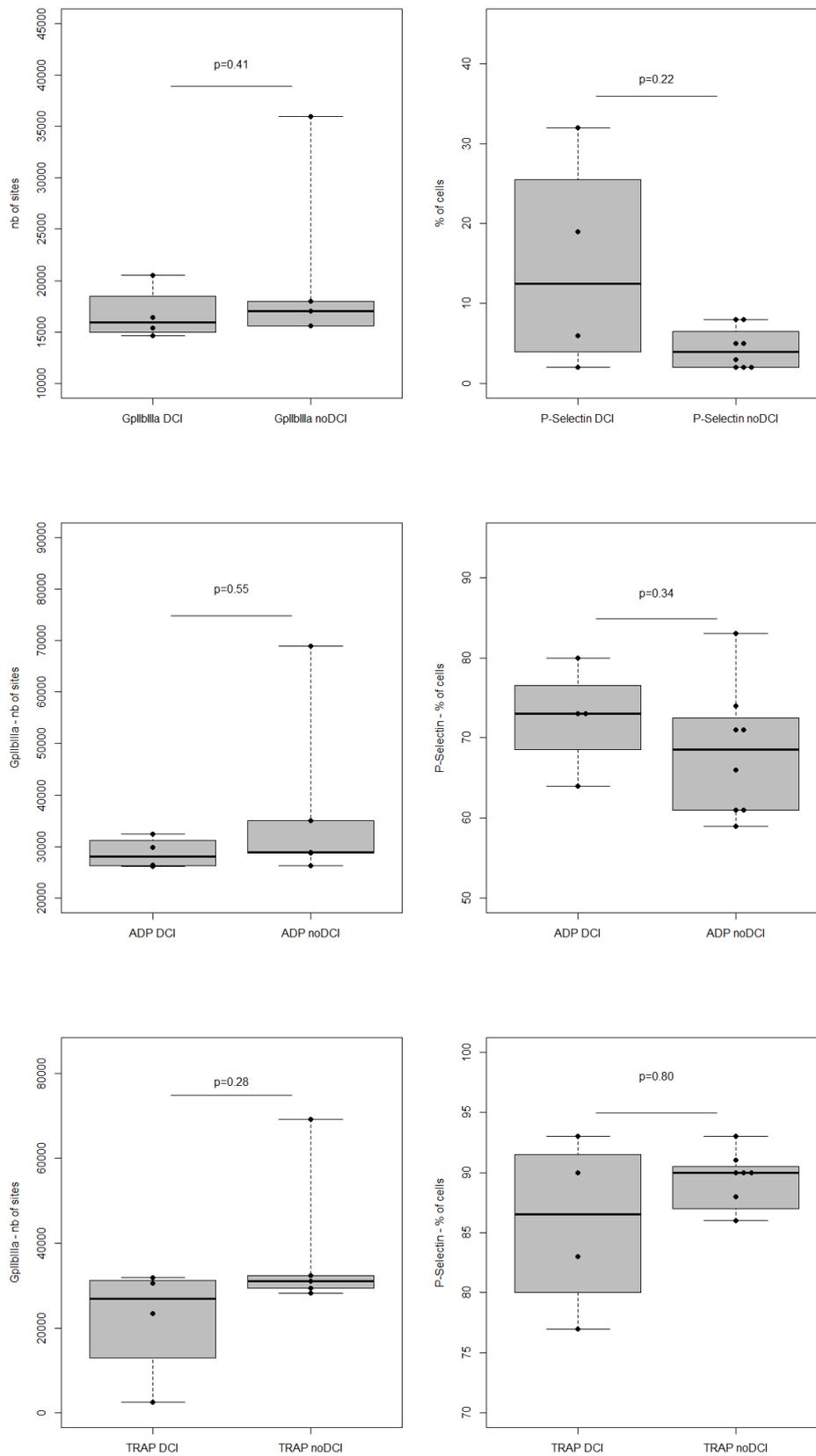


FIGURE 3.2 – Expression de GpIIb/IIIa (en nombre de sites, n=4 DCI et n=4 noDCI) et de la P-Sélectine (en %, n=4 DCI et n=8 noDCI) à l'état basal, stimulée par l'ADP et TRAP.

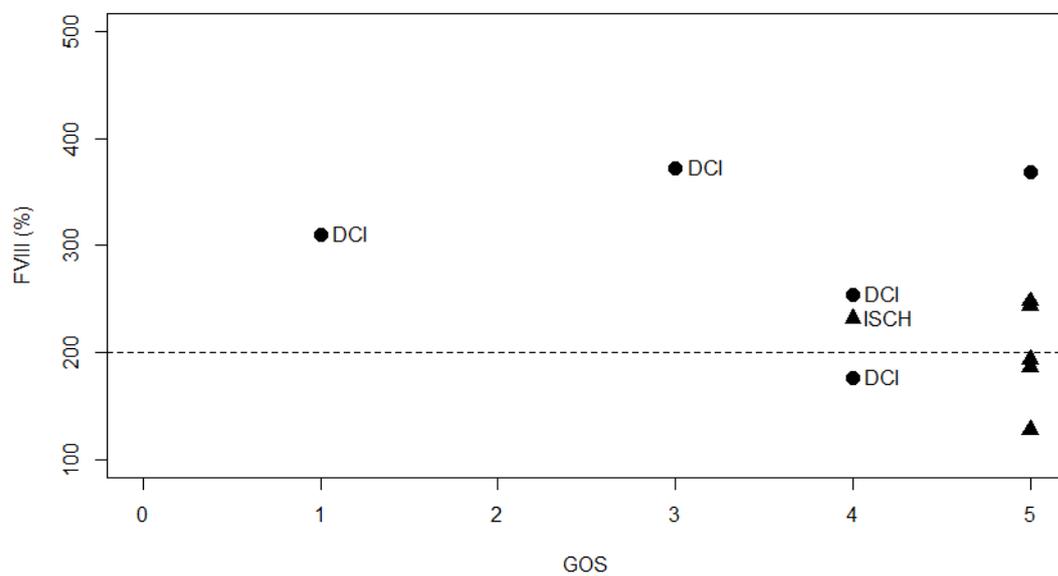
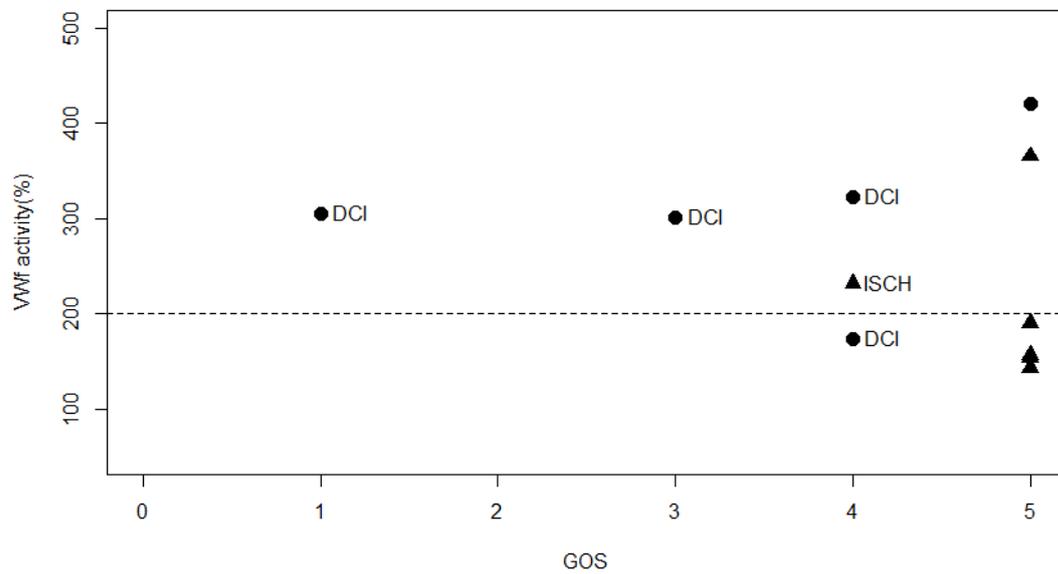


FIGURE 3.3 – Pourcentages de facteur VIII (FVIII) et facteur Von Willebrand (FVW) en fonction du GOS. Les points noirs correspondent aux VS+ (n=5) et les triangles noirs aux VS- (n=6) à J10. Valeurs normales FVIII et FVW : [50.150]. GOS=Glasgow Outcome Scale, ISCH=ischémie, DCI=Delayed cerebral ischemia.

### 3.4 Fonction plaquettaire dans l'hémorragie méningée et statut inflammatoire

Nous comparons les patients avec une hémorragie méningée à un groupe de patients en post opératoire d'orthopédie dont le profil inflammatoire est bien étudié.

Nous détaillons le profil de l'hémostase primaire pour chacun des patients des 2 groupes au travers de la figure 13. Graphiquement, les patients HSA ont comme les patients d'Ortho une forte activation via la voie de l'ADP, ainsi qu'une importante agrégation également sur la voie de l'ADP. Il existe peu d'agrégation sur la voie de l'acide arachidonique chez les HSA par rapport aux Postop.

Les résultats sont résumés dans la table 3.3. Le nombre de plaquettes et de leucocytes était normal. Le fibrinogène était augmenté de façon similaire dans les 2 groupes. Les plaquettes ont une expression basale de GpIIbIIIa et de P-selectine très élevée dans les deux groupes, la réponse était aussi importante quand les plaquettes sont stimulées par l'ADP. On observe chez 2 patients (un dans le groupe HSA et un dans le groupe Postop) une agrégation spontanée, en conséquence ces patients n'ont pas été analysés. L'agrégation stimulée par l'ADP était élevée dans les 2 groupes, particulièrement chez les Postop. Le PFA100 était dans des valeurs normales, dans les 2 groupes, quand il était stimulé par l'ADP, il était allongé dans le groupe HSA quand il était stimulé par l'épinéphrine. Le FVIII et le FVW étaient augmentés dans les 2 groupes.

	Postop		HSA		P-value	Valeurs normales
	médiane	<i>quartile</i>	médiane	<i>quartile</i>		
Plaquettes ( $10^9/L$ )	346	[309;440]	244	[224;368]	0.24	[150;450]
Leucocytes ( $10^9/L$ )	10.9	[10.7;11.9]	9.8	[7.8;12.2]	0.57	[4;10]
Fibrinogène (g/L)	7.0	[5.1;7.9]	5.0	[3.9;6;8]	0.15	[2;4]
FVW (%)	284.0	[280;320]	186.0	[155;264]	0.02	[50;150]
GpIIbIIIa (nb of sites)						
<i>basal</i>	18267	[16321;19114]	16618	[14174;18245]	0.66	
<i>ADP</i>	29547	[28147;32665]	30702	[20347;33831]	0.51	
<i>TRAP</i>	33381	[30316;33504]	30062	[27375;31712]	0.44	
P-Selectine (% of cells)						
<i>basal</i>	4.5	[3.2;5.8]	6.0	[4;8.5]	0.65	<5
<i>ADP</i>	77.0	[71;77]	82.0	[62;83]	0.48	[60;70]
<i>TRAP</i>	93.5	[91.5;94.8]	90.0	[89;93]	0.14	>75
Index VASP (%)	83.3	[79;91]	83.5	[72.2;85]	0.48	>50
Agrégation (%)						
<i>ADP0.6</i>	80.0	[79;90]	29.0	[22;46]	0.13	[14;25]
<i>AA0.5</i>	95.0	[72;101]	82.0	[76;86]	0.39	[85;96]
PFA 100 (sec)						
<i>ADP</i>	78.0	[70;112]	87.0	[64;106]	0.93	[71;118]
<i>EPI</i>	78.0	[70;84]	117.0	[101;148]	<0.01	[85;165]
FVIII (%)	300.0	[210;362]	190.0	[173;232]	0.15	[50;150]
D-Dimère gen (AUC)	34275	[26114;40709]	19403	[16412;42067]	0.90	[3380;6250]

TABLE 3.3 – Comparaison entre paramètres inflammatoires, d’activation et d’agrégation chez les patients du groupe HSA et Postop. HSA : hémorragie sous arachnoïdienne, Postop : patients de chirurgie orthopédique, FVW : facteur von Willebrand, ADP : adenosine diphosphate, TRAP : thrombin receptor activating peptide, VASP : vasodilator-stimulated phosphoprotein, ADP 0.6 : adenosine diphosphate at 0.6 M, AA : arachidonic acid à 0.5M, PFA : platelet function analyzer, Epi : epinephrine, FVIII= facteur VIII, D-Dimer gen : D-Dimer generation.

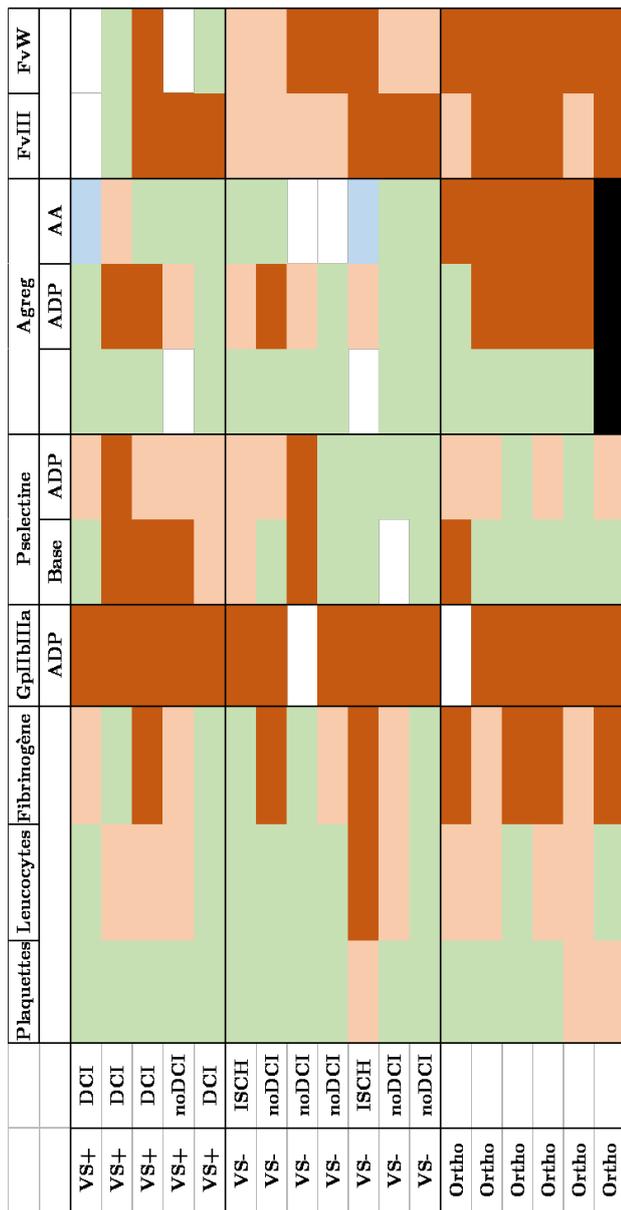


FIGURE 3.4 – Heatmap représentant les paramètres de l'hémostase primaire pour chacun des patients avec une hémorragie méningée à J5 et 6 patients en post-opératoire d'une prothèse de hanche ou de genou entre J1 et J3. Les cases en vert correspondent aux valeurs normales, les cases en orange clair à une augmentation de 20% par rapport à la normale, les cases en orange foncé à une augmentation >20%, en bleu pour les diminutions par rapport aux valeurs normales. Les cases vides correspondent aux valeurs manquantes, en noir= agrégation spontanée, BASE= valeur basale sans réactif.

# Partie 4

## Discussion

### 4.1 Résumé et critiques des résultats

#### 4.1.1 Fonction plaquettaire dans l'HSA

L'originalité de cette étude est de s'être intéressée uniquement à une population de patients avec une prise en charge initiale endovasculaire avec un profil plaquettaire qui n'est donc pas dû à l'inflammation générée par la neurochirurgie. Cette population avait un risque important de vasospasme et de DCI, avec une incidence proche de celle retrouvée dans la littérature (environ 40%) chez des patients présentant une HSA Fisher III et IV.

Nous pouvons mettre en évidence le profil plaquettaire chez des patients ayant une HSA anévrysmale au cours du temps. Les plaquettes de ces patients étaient très activées particulièrement lorsqu'elles étaient stimulées par l'ADP mais également très agrégable. Cette réponse importante à l'ADP suggère une importance de cette voie d'activation. Les tests globaux de fonction plaquettaire sont plutôt en faveur d'une diminution de la formation du clou plaquettaire. On note également une activation endothéliale et une fibrinolyse importante, observées par le taux de FVIII, de facteur Von Willebrand et de la génération D-Dimères. Le profil plaquettaire semblait se modifier au cours du temps : l'inflammation tente à augmenter ainsi que l'agrégation alors même que l'activation diminue (tout en restant élevée).

#### 4.1.2 Comparaison avec le groupe Postop

La comparaison avec le groupe Postop donnait des informations sur le niveau d'activation/agrégation des plaquettes dans un groupe reconnu à fort risque de thrombose, elle avait également pour but de comparer le profil inflammatoire des patients HSA par rapport à un groupe inflammatoire non septique dont les caractéristiques plaquettaires sont connues. En effet, la prothèse totale de genou et de hanche sont reliés à un taux de thromboses cliniques important avec une hyperactivation et une hyperagrégabilité plaquettaire dont les mécanismes ne sont pas clairement identifiés mais lié d'une part aux saignements

induits par cette chirurgie et d'autre part à l'inflammation générée[21]. Notre hypothèse était que le niveau d'hyperagrégabilité plaquettaire était proche de patients à fort risque de thrombose. Nous avons pu montrer que l'activation plaquettaire à l'ADP était similaire dans les deux groupes en revanche, il semble que l'agrégation soit plus importante dans le groupe Postop que dans le groupe HSA.

De la même façon, la fibrinolyse était plus importante chez les patients Postop que les HSA, en faveur d'une activation endothéliale avec la prédominance de la voie du tPA (fibrinolyse liée à l'activation endothéliale) sur celle de PAI1 (inhibition de la fibrinolyse liée à l'inflammation).

### 4.1.3 Evolution vers l'ischémie retardée

Nous nous sommes également intéressés à la fonction plaquettaire chez les patients développant ou non une ischémie retardée. Dans le service, le vasospasme était diagnostiqué précocement en raison d'un monitoring intensif et pouvant être confirmé rapidement par artériographie quand cela était nécessaire. Une ischémie cérébrale à 6 semaines, était retrouvée chez 6 patients avec pour 2 patients, une ischémie due à la sécurisation de l'anévrisme. Dans la littérature, le rôle du vasospasme dans le DCI n'est pas clair car on observe des ischémies retardées chez des patients n'ayant pas de mise en évidence du vasospasme artériographique et des vasospasmes ne donnant pas d'ischémie retardée. Dans notre petite cohorte, 4 patients sur les 5 patients ayant un vasospasme, présentaient une ischémie retardée. Nous n'avons malheureusement pas pu observer de différence de profil plaquettaire chez les patients développant une ischémie retardée ou un vasospasme. Les 2 ischémies cérébrales dues à l'embolisation n'avaient pas non plus de profil plaquettaire particulier à part des niveaux de P-sélectine normale ce qui différait des patients ayant développé une ischémie retardée.

## 4.2 Limites méthodologiques

On peut reprocher à ce travail de n'avoir inclus que 12 patients en deux ans mais il s'agissait d'un travail exploratoire dont le but était d'inclure des HSA simples (pas de comorbidités chez les patients, pas de dysfonction surajoutée à la prise en charge, d'un mécanisme anévrysmal pur). La petite taille de notre cohorte limite l'interprétation des résultats concernant la survenue du vasospasme et de l'ischémie retardée. Elle présente également un biais car les patients ayant développé un vasospasme ont pratiquement (4 patients/5) tous été traités par milrinone dans les suites. La petite taille de l'échantillon et le nombre de données manquantes limitent grandement les interprétations que l'on peut tirer de cette étude mais elle donne néanmoins des pistes de recherche.

Le groupe contrôle est discutable. Nous avons comparé des patients atteints d'une HSA à des patients en post-opératoire. L'hypothèse était que le profil plaquettaire de ces patients étaient en lien avec une inflammation non septique. L'idée qui s'en dégage est que malgré une lésion vasculaire limitée dans l'HSA, le niveau d'activation est proche de patients ayant subi une chirurgie hémorragique et délabrante. Initialement, nous souhaitions faire également une comparaison avec des patients atteints d'un hématome intra-crânien afin de comparer le profil plaquettaire du saignement intracérébral et de l'HSA.

Néanmoins, un changement de prise en charge de ces patients, conduisant à avoir recours de plus en plus à la chirurgie d'évacuation de l'hématome, ne nous a pas permis d'inclure ces patients. Pour les 2 patients que nous avons inclus, les niveaux d'activation, d'agrégation plaquettaire et d'activation endothéliale étaient superposables aux patients avec HSA, suggérant peut être un rôle prépondérant des lésions cérébrales dans le profil plaquettaire constaté. D'autres groupes de comparaison auraient pu être envisagés comme des patients programmés de neuroradiologie interventionnelle ou de coronarographie pour évaluer le rôle de l'artériographie dans l'activation plaquettaire.

Cette étude pose la question de la reproductibilité de ces résultats. Nous nous sommes intéressés, ici, aux patients ayant eu un traitement endovasculaire de leur anévrisme car nous bénéficions d'une grande disponibilité du plateau technique mais également car il a été montré qu'une prise en charge endovasculaire pour le traitement de l'anévrisme, plutôt que chirurgicale, diminuait la survenue du vasospasme et de l'ischémie retardée[1] mais aussi qu'elle améliorait le pronostic[86]. L'approche quasi-exclusivement endovasculaire est une particularité de notre centre. De la même façon, les moyens cliniques et paracliniques mis en oeuvre à la recherche d'un vasospasme conditionnent son diagnostic. Il n'y a pas eu de surdiagnostic de vasospasme car 4 patients/5 avaient une ischémie retardée dans les suites.

### 4.3 Une suractivation plaquettaire

Nous avons constaté que les plaquettes des patients HSA étaient particulièrement activées. L'expression importante de la P-selectine reflète une activation plaquettaire après un relargage des granules alpha. Cette exocytose plaquettaire pourrait ainsi être l'une des causes de la sécrétion de sérotonine et de thromboxane, deux molécules ayant des propriétés vasoconstrictives. Dans ce contexte, l'expression qui diminue après stimulation à l'ADP, au cours du temps, en restant tout de même très élevée, pourraient être secondaire à une suractivation plaquettaire liée à un épuisement des plaquettes. Le taux élevé de renouvellement plaquettaire avec un niveau de plaquettes immatures plus élevées (mais non significatifs) chez les patients DCI que chez les patients noDCI pourraient être un argument de plus, en faveur de cet épuisement plaquettaire.

Les niveaux similaires de P-sélectine dans les groupes HSA et Postop pourraient être en lien avec une inflammation non-septique importante dans ces deux groupes. En effet, la P-sélectine est contenue dans les granules plaquettaires et s'exprime à la surface membranaire au cours de l'activation. Les monocytes, neutrophiles et éosinophiles expriment le ligand correspondant PSGL-1 pouvant ainsi former un agrégat plaquettes-leucocytes. Cet agrégat augmente le relargage par les monocytes de cytokines pro-inflammatoires et favorise l'adhésion des monocytes à l'endothélium[87]. Ces médiateurs pro-inflammatoires contribuent à l'expression endothéliale des molécules d'adhésion et à la lésion de la barrière hémato-encéphalique, favorisant l'infiltration des leucocytes dans le tissu cérébral[88]. Par conséquent, les plaquettes pourraient jouer un rôle dans la signalisation inflammatoire dans la période précoce de l'ischémie.

## 4.4 Une activation endothéliale

Concernant l'activation endothéliale, nous avons trouvé une modification du profil du facteur Von Willebrand et du facteur VIII au cours du temps. L'activation endothéliale semble être majeure et pourrait être en lien avec le développement de l'ischémie retardée. Les taux élevés de facteur Von Willebrand et de facteur VIII, spécialement dans le groupe avec vasospasme pourraient être reliés avec une activation endothéliale et une diminution de l'activité d'ADAMTS 13, comme décrit dans les maladies inflammatoires telles que la microangiopathie thrombotique. Il est néanmoins à noter que l'artériographie par la montée d'un cathéter dans les vaisseaux est également une cause d'augmentation du facteur VIII et du facteur Von Willebrand. En effet, chez des chiens ayant une occlusion d'une artère maxillaire/vertébrale ou linguale, après revascularisation par coiling, il était observé des niveaux de facteurs Von Willebrand plus élevés après le geste et perdurant pendant plusieurs jours[89]. L'inflammation, quelle qu'en soit sa cause, augmente elle-aussi les taux de FVIII et FVW circulants.

## 4.5 La voie de l'ADP, une voie préférentielle

Il semble que la voie de l'ADP soit particulièrement impliquée dans le profil plaquettaire que nous observons après hémorragie méningée. Dans la méta analyse de la Cochrane de 2007 étudiant les traitements antiplaquettaires dans l'hémorragie méningée, 7 études ont été incluses, concernant 1385 patients. Les antiagrégants plaquettaires réduisaient le nombre de pronostic défavorable et d'ischémie retardée sans différence significative et augmentaient le nombre de complications hémorragiques. Deux limitations sont à apporter à ces constatations. Les patients de ces études avaient un traitement de leur anévrisme principalement par chirurgie et dans une bien moindre mesure par neuroradiologie interventionnelle. On peut raisonnablement penser que la neurochirurgie et l'adjonction d'un traitement antiagrégant plaquettaire puissent augmenter le risque de complications hémorragiques. D'autre part, quand les agents antiplaquettaires étaient étudiés individuellement, seule la ticlodipine était associée significativement à une diminution du nombre de patients avec un mauvais pronostic. La ticlodipine est un inhibiteur de la voie de l'ADP ce qui va dans le même sens que nos observations.

La milrinone n'a pas fait preuve de son efficacité dans l'HSA au travers d'une étude prospective, contrôlée. Néanmoins, plusieurs études ont montré son intérêt dans la prise en charge du vasospasme : Lannes et al. [60] rapporte 88 patients avec un vasospasme traité avec un protocole spécifique comprenant une perfusion de milrinone, 70% des patients avaient un bon outcome à 1 an avec un score de Rankin modifié <2, Fraticelli et al. [84] montre chez 22 patients une augmentation du calibre artériel après dilatation chimique par milrinone et un score de Rankin modifié <2 à 1 ans chez 18/22 patients. Le gain apporté par la milrinone est souvent considéré en lien avec son effet inotrope positif et son effet vasodilatateur. Un autre rôle de la milrinone qui pourrait être ajouté, ici, est son effet antiplaquettaire. En effet, certaines études[69, 90] ont montré un effet antiplaquettaire de la Milrinone : chez des adultes sains et des patients en post opératoire d'une chirurgie du genou, il existait un effet antiplaquettaire sur la voie de l'ADP et l'acide arachidonique qui était dose-dépendant. L'activation particulière à l'ADP dans l'hémorragie méningée pourrait expliquer une partie de l'efficacité de la Milrinone. Concernant notre population

de VS+, le traitement par milrinone IVSE pourrait avoir eu un double effet sur le vasospasme et l'ischémie retardée : à la fois un effet vasodilatateur mais également un effet antiagrégant plaquettaire.

Dans le même ordre d'idée, la nimodipine donnée en prophylaxie chez les patients avec une HSA, ne diminue pas l'incidence du vasospasme mais améliore le pronostic, peut être en lien avec un effet antiplaquettaire. En effet, dans une étude randomisée[73] avec 41 patients recevant soit de la nimodipine, soit un placebo, le traitement par nimodipine n'avait pas proprement d'effet sur l'agrégabilité des plaquettes. En revanche, le relargage de thromboxane B2 augmentait significativement dans le groupe avec placebo alors qu'il restait stable dans le groupe nimodipine suggérant un effet antiplaquettaire de la nimodipine, pouvant jouer un rôle dans la diminution de l'ischémie cérébrale retardée et l'amélioration du pronostic.

## Partie 5

# Conclusion et perspectives

Nous avons confirmé l'hyperactivation et l'hyperagrégabilité des plaquettes dans des échantillons sanguins de patients après une HSA anévrismale alors que tous étaient traités par la méthode endovasculaire. La voie d'activation des plaquettes de l'ADP était particulièrement stimuable.

Le profil plaquettaire se modifiait au cours de temps avec une agrégabilité qui se majorait alors que l'expression des molécules membranaires associées à l'activation tendait à diminuer. Chez les patients qui présentaient un vasospasme, l'activation endothéliale, explorée par le FVIII et le FvW, était particulièrement élevée en comparaison des patients n'ayant pas de vasospasme. Lorsqu'on comparait les patients avec HSA au patient de chirurgie orthopédique dont le statut thrombotique est reconnu, le profil d'activation était similaire, alors qu'ils n'avaient pas eu d'intervention chirurgicale. Ces résultats obtenus sur une petite cohorte de patients soulignent l'intérêt de considérer l'impact de la fonction plaquettaire dans l'HSA, en particulier lors des procédures endovasculaires à haut risque thrombotique effectuées pour le traitement initial ou le vasospasme.

Les traitements inhibiteurs de la fonction plaquettaire pourraient être proposés pour la prévention des lésions vasculaires associées au vasospasme après la prise en compte du risque hémorragique individuel. Le timing de ces traitements, durant l'artériographie, en dose unique ou dans les suites selon la durée de vie des agents utilisés, mériterait alors d'être étudié.

L'étude des concentrations circulantes de facteurs endothéliaux, tels que le FVIII et le FvW, pourrait avoir un intérêt dans l'évaluation du risque de vasospasme et son évolution dans le temps.

Si la prédiction du vasospasme et de l'ischémie retardée est un enjeu important, les traitements à proposer pour traiter le vasospasme ou la découverte d'une prophylaxie chez les patients les plus à risque sont un défi majeur dans cette pathologie.

# Bibliographie

- [1] Andrew J Molyneux, Richard S C Kerr, Ly-Mee Yu, Mike Clarke, Mary Sneade, Julia A Yarnold, and Peter Sandercock. International subarachnoid aneurysm trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms : a randomised comparison of effects on survival, dependency, seizures, rebleeding, subgroups, and . *Lancet*, 366(9488) :809–17.
- [2] C D Wolfe, M Giroud, P Kolominsky-Rabas, R Dundas, M Lemesle, P Heuschmann, and A Rudd. Variations in stroke incidence and survival in 3 areas of Europe. European Registries of Stroke (EROS) Collaboration. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 31(9) :2074–9, sep 2000.
- [3] Ryszard M Pluta. Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide : review, new hypothesis, and proposed treatment. *Pharmacology & therapeutics*, 105(1) :23–56, jan 2005.
- [4] Jose I Suarez, Robert W Tarr, and Warren R Selman. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *The New England journal of medicine*, 354(4) :387–96, jan 2006.
- [5] A Palanisamy, R J Klickovich, M Ramsay, D W Ouyang, and L C Tsen. Intravenous dexmedetomidine as an adjunct for labor analgesia and cesarean delivery anesthesia in a parturient with a tethered spinal cord. *International journal of obstetric anesthesia*, 18(3) :258–61, jul 2009.
- [6] M. D. I. Vergouwen, M. Vermeulen, J. van Gijn, G. J. E. Rinkel, E. F. Wijndicks, J. P. Muizelaar, A. D. Mendelow, S. Juvela, H. Yonas, K. G. Terbrugge, R. L. Macdonald, M. N. Diringer, J. P. Broderick, J. P. Dreier, and Y. B. W. E. M. Roos. Definition of Delayed Cerebral Ischemia After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage as an Outcome Event in Clinical Trials and Observational Studies : Proposal of a Multidisciplinary Research Group. *Stroke*, 41(10) :2391–2395, oct 2010.
- [7] Angelos G Koliass, Jon Sen, and Antonio Belli. Pathogenesis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage : putative mechanisms and novel approaches. *Journal of neuroscience research*, 87(1) :1–11, jan 2009.
- [8] A Horowitz, C B Menice, R Laporte, and K G Morgan. Mechanisms of smooth muscle contraction. *Physiological reviews*, 76(4) :967–1003, oct 1996.
- [9] R L Macdonald, S Ono, L Johns, L S Marton, B Weir, Z D Zhang, B Yamini, T Komuro, I Ahmed, and M Stoodley. Molecular weight interactions in experimental vasospasm. *Acta neurochirurgica. Supplement*, 77 :115–7, 2001.
- [10] R M Pluta, B G Thompson, T M Dawson, S H Snyder, R J Boock, and E H Oldfield. Loss of nitric oxide synthase immunoreactivity in cerebral vasospasm. *Journal of neurosurgery*, 84(4) :648–54, apr 1996.

- [11] Carla S Jung, Brian A Iuliano, Judith Harvey-White, Michael G Espey, Edward H Oldfield, and Ryszard M Pluta. Association between cerebrospinal fluid levels of asymmetric dimethyl-L-arginine, an endogenous inhibitor of endothelial nitric oxide synthase, and cerebral vasospasm in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*, 101(5) :836–42, nov 2004.
- [12] Michael Chow, Aaron S Dumont, and Neal F Kassell. Endothelin receptor antagonists and cerebral vasospasm : an update. *Neurosurgery*, 51(6) :1333–41 ; discussion 1342, dec 2002.
- [13] K Nagata, T Sasaki, T Mori, H Nikaido, E Kobayashi, P Kim, and T Kirino. Cisternal talc injection in dog can induce delayed and prolonged arterial constriction resembling cerebral vasospasm morphologically and pharmacologically. *Surgical neurology*, 45(5) :442–7, may 1996.
- [14] Masayo Koide, Inna Sukhotinsky, Cenk Ayata, and George C Wellman. Subarachnoid hemorrhage, spreading depolarizations and impaired neurovascular coupling. *Stroke research and treatment*, 2013 :819340, 2013.
- [15] R Loch Macdonald. Delayed neurological deterioration after subarachnoid haemorrhage. *Nature reviews. Neurology*, 10(1) :44–58, jan 2014.
- [16] R Webster Crowley, R Medel, Aaron S Dumont, Don Ilodigwe, Neal F Kassell, Stephan A Mayer, Daniel Ruefenacht, Peter Schmiedek, Stephan Weidauer, Alberto Pasqualin, and R Loch Macdonald. Angiographic vasospasm is strongly correlated with cerebral infarction after subarachnoid hemorrhage. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 42(4) :919–23, apr 2011.
- [17] Sherman C Stein, Kevin D Browne, Xiao-Han Chen, Douglas H Smith, and David I Graham. Thromboembolism and delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage : an autopsy study. *Neurosurgery*, 59(4) :781–7 ; discussion 787–8, oct 2006.
- [18] S Juvela, M Hillbom, and M Kaste. Platelet thromboxane release and delayed cerebral ischemia in patients with subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*, 74(3) :386–92, mar 1991.
- [19] Y Honma, B R Clower, J L Haining, and R R Smith. Comparison of intimal platelet accumulation in cerebral arteries in two experimental models of subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*, 24(4) :487–90, apr 1989.
- [20] S M Dorhout Mees, W M van den Bergh, A Algra, and G J E Rinkel. Antiplatelet therapy for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *The Cochrane database of systematic reviews*, (4) :CD006184, jan 2007.
- [21] Brandon S. Oberweis, Swetha Nukala, Andrew Rosenberg, Yu Guo, Steven Stuchin, Martha J. Radford, and Jeffrey S. Berger. Thrombotic and bleeding complications after orthopedic surgery. *American Heart Journal*, 165(3) :427–433.e1, mar 2013.
- [22] Charles T. Esmon. The impact of the inflammatory response on coagulation. *Thrombosis Research*, 114(5-6) :321–327, jan 2004.
- [23] Brandon S. Oberweis, Germaine Cuff, Andrew Rosenberg, Luis Pardo, Michael A. Nardi, Yu Guo, Ezra Dweck, Mitchell Marshall, David Steiger, Steven Stuchin, and Jeffrey S. Berger. Platelet aggregation and coagulation factors in orthopedic surgery. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 38(4) :430–438, nov 2014.
- [24] R. Loch Macdonald. Origins of the Concept of Vasospasm. *Stroke*, 47(1), 2015.

- [25] Hunter J.A. Treatise on the Blood Inflammation and Gunshot Wounds. *PA : J. Webster*, 1813.
- [26] Howard Florey. Microscopical observations on the circulation of the blood in the cerebral cortex. *Brain*, 48(1), 1925.
- [27] Douglas Cow. Some reactions of surviving arteries. *The Journal of Physiology*, 42(2) :125–143, mar 1911.
- [28] E. Graeme Robertson. Cerebral lesions due to intracranial aneurysms. *Brain*, 72(2), 1949.
- [29] C M Fisher, J P Kistler, and J M Davis. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery*, 6(1) :1–9, jan 1980.
- [30] Ryszard M Pluta, Jacob Hansen-Schwartz, Jens Dreier, Peter Vajkoczy, R Loch Macdonald, Shigeru Nishizawa, Hideotoshi Kasuya, George Wellman, Emanuela Keller, Alois Zauner, Nicholas Dorsch, Joseph Clark, Shigeki Ono, Talat Kiris, Peter Leroux, John H Zhang, Ryszard M Pluta, Jacob Hansen-Schwartz, Jens Dreier, Peter Vajkoczy, R Loch Macdonald, Shigeru Nishizawa, Hideotoshi Kasuya, George Wellman, Emanuela Keller, Alois Zauner, Nicholas Dorsch, Joseph Clark, Shigeki Ono, Talat Kiris, Peter Leroux, and John H Zhang. Cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage : time for a new world of thought. *Neurological Research*, 31(2) :151–8, 3 2009. Keywords : Animals ; Cerebral Cortex ; Cortical Spreading Depression ; Humans ; International Cooperation ; Subarachnoid Hemorrhage ; Vasoconstriction ; Vasospasm, Intracranial.
- [31] J. M. Findlay, R. L. Macdonald, and B. K. Weir. Current concepts of pathophysiology and management of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*, 3(4) :336–361, 1991.
- [32] A. Pasqualin. Epidemiology and pathophysiology of cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg Sci*, 42(1 Suppl 1) :15–21, Mar 1998.
- [33] P. Gaetani, R. Rodriguez y Baena, G. Grignani, G. Spanu, L. Pacchiarini, and P. Paoletti. Endothelin and aneurysmal subarachnoid haemorrhage : a study of subarachnoid cisternal cerebrospinal fluid. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.*, 57(1) :66–72, Jan 1994.
- [34] A. Munakata, M. Naraoka, T. Katagai, N. Shimamura, and H. Ohkuma. Role of Cyclooxygenase-2 in Relation to Nitric Oxide and Endothelin-1 on Pathogenesis of Cerebral Vasospasm After Subarachnoid Hemorrhage in Rabbit. *Transl Stroke Res*, 7(3) :220–227, Jun 2016.
- [35] R. L. Macdonald, R. T. Higashida, E. Keller, S. A. Mayer, A. Molyneux, A. Raabe, P. Vajkoczy, I. Wanke, D. Bach, A. Frey, A. Marr, S. Roux, and N. Kassell. Randomised trial of clazosentan, an endothelin receptor antagonist, in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage undergoing surgical clipping (CONSCIOUS-2). *Acta Neurochir. Suppl.*, 115 :27–31, 2013.
- [36] R. L. Macdonald, R. T. Higashida, E. Keller, S. A. Mayer, A. Molyneux, A. Raabe, P. Vajkoczy, I. Wanke, A. Frey, A. Marr, S. Roux, and N. F. Kassell. Preventing vasospasm improves outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage : rationale and design of CONSCIOUS-2 and CONSCIOUS-3 trials. *Neurocrit Care*, 13(3) :416–424, Dec 2010.

- [37] John W German, Cordell E Gross, Patricia Giclas, William Watral, and Martin M Bednar. Systemic complement depletion inhibits experimental cerebral vasospasm. *Neurosurgery*, 39(1) :141–146, 1996.
- [38] Vikas Kaura and Stephen Bonner. Subarachnoid haemorrhage : early clinical indicators and biomarkers. *Trends in Anaesthesia and Critical Care*, 2(1) :42–47, 2012.
- [39] Shivanand P Lad, Harald Hegen, Gaurav Gupta, Florian Deisenhammer, and Gary K Steinberg. Proteomic biomarker discovery in cerebrospinal fluid for cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 21(1) :30–41, 2012.
- [40] Murad Bavbek, Richard Polin, Aij-Lie Kwan, Adam S Arthur, Neal F Kassell, and Kevin S Lee. Monoclonal antibodies against icam-1 and cd18 attenuate cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Stroke*, 29(9) :1930–1936, 1998.
- [41] Jens P Dreier. The role of spreading depression, spreading depolarization and spreading ischemia in neurological disease. *Nature medicine*, 17(4) :439–447, 2011.
- [42] Marie-Aimée Dronne, Emmanuel Grenier, Guillemette Chapuisat, Marc Hommel, and Jean-Pierre Boissel. A modelling approach to explore some hypotheses of the failure of neuroprotective trials in ischemic stroke patients. *Progress in biophysics and molecular biology*, 97(1) :60–78, 2008.
- [43] G Neil-Dwyer, DA Lang, B Doshi, Ch J Gerber, and PWF Smith. Delayed cerebral ischaemia : the pathological substrate. *Acta neurochirurgica*, 131(1-2) :137–145, 1994.
- [44] Nima Etminan, Mervyn D I Vergouwen, Don Ilodigwe, and R Loch Macdonald. Effect of pharmaceutical treatment on vasospasm, delayed cerebral ischemia, and clinical outcome in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage : a systematic review and meta-analysis. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 31(6) :1443–51, jun 2011.
- [45] J Claassen, G L Bernardini, K Kreiter, J Bates, Y E Du, D Copeland, E S Connolly, and S A Mayer. Effect of cisternal and ventricular blood on risk of delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage : the Fisher scale revisited. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 32(9) :2012–20, sep 2001.
- [46] M V Sysoeva, A Lüttjohann, G van Luijtelaaar, and I V Sysoev. Dynamics of directional coupling underlying spike-wave discharges. *Neuroscience*, 314 :75–89, feb 2016.
- [47] Yi Wu, Ke Tang, Ren-Qiang Huang, Zong Zhuang, Hui-Lin Cheng, Hong-Xia Yin, and Ji-Xin Shi. Therapeutic potential of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist rosiglitazone in cerebral vasospasm after a rat experimental subarachnoid hemorrhage model. *Journal of the Neurological Sciences*, 305(1) :85–91, 2011.
- [48] Hiroyuki Ohnishi, Koji Iihara, Yasuyuki Kaku, Keita Yamauchi, Kenji Fukuda, Kunihiko Nishimura, Michikazu Nakai, Tetsu Satow, Norio Nakajima, and Masaya Ikegawa. Haptoglobin phenotype predicts cerebral vasospasm and clinical deterioration after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association*, 22(4) :520–6, may 2013.

- [49] Robert Siman, Nicholas Giovannone, Nikhil Toraskar, Suzanne Frangos, Sherman C Stein, Joshua M Levine, and Monisha A Kumar. Evidence that a panel of neurodegeneration biomarkers predicts vasospasm, infarction, and outcome in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *PloS one*, 6(12) :e28938, 2011.
- [50] Paola Sanchez-Peña, Aurélien Nouet, Frédéric Clarençon, Chantal Colonne, Betty Jean, Lise Le Jean, Michèle Fonfrede, Mounir Aout, Eric Vicaud, and Louis Puybasset. Atorvastatin decreases computed tomography and S100-assessed brain ischemia after subarachnoid aneurysmal hemorrhage : a comparative study. *Critical care medicine*, 40(2) :594–602, feb 2012.
- [51] Jae Hoon Kim, Hyeong-Joong Yi, Yong Ko, Young-Soo Kim, Dong-Won Kim, and Jae-Min Kim. Effectiveness of papaverine cisternal irrigation for cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and measurement of biomarkers. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 35(5) :715–22, may 2014.
- [52] Sherry H-Y Chou, Steven K Feske, Juli Atherton, Rachael G Konigsberg, Philip L De Jager, Rose Du, Christopher S Ogilvy, Eng H Lo, and MingMing Ning. Early elevation of serum tumor necrosis factor- $\alpha$  is associated with poor outcome in subarachnoid hemorrhage. *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research*, 60(7) :1054–8, oct 2012.
- [53] Carla S Jung, Bettina Lange, Michael Zimmermann, and Volker Seifert. CSF and Serum Biomarkers Focusing on Cerebral Vasospasm and Ischemia after Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke research and treatment*, 2013 :560305, 2013.
- [54] Sheila A Alexander, Mary E Kerr, Jeffrey Balzer, Michael Horowitz, Amin Kassam, Yookyung Kim, Leslie Hoffman, and Yvette P Conley. Cerebrospinal fluid apolipoprotein E, calcium and cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Biological research for nursing*, 10(2) :102–12, oct 2008.
- [55] J Bellapart, Lee Jones, H Bandeshe, and R Boots. Plasma endothelin-1 as screening marker for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurocritical care*, 20(1) :77–83, feb 2014.
- [56] Chih-Lung Lin, Yi-Tzu Hsu, Tzu-Kang Lin, Jason D Morrow, Jee-Ching Hsu, Yung-Hsing Hsu, Tsung-Che Hsieh, Pei-Kwei Tsay, and Hsiu-Chuan Yen. Increased levels of F2-isoprostanes following aneurysmal subarachnoid hemorrhage in humans. *Free radical biology & medicine*, 40(8) :1466–73, apr 2006.
- [57] Paul Harrison. Platelet function analysis. *Blood Reviews*, 19(2) :111–123, 2005.
- [58] Tuan D Nguyen, Christoph Wirblich, Elias Aizenman, Matthias J Schnell, Peter L Strick, and Karl Kandler. Targeted single-neuron infection with rabies virus for transneuronal multisynaptic tracing. *Journal of neuroscience methods*, 209(2) :367–70, aug 2012.
- [59] HAS-Biologie des anomalies de l’hémostase, test photométrique d’agrégation plaquettaire.
- [60] Dominique Lasne and Martine Aiach. Exploration des fonctions plaquettaires par le PFA100TM : performances et limites. *Sang Thrombose Vaisseaux*, 12(2) :97–103, mar 2000.
- [61] J W Hop, G J Rinkel, A Algra, J W Berkelbach van der Sprenkel, and J van Gijn. Randomized pilot trial of postoperative aspirin in subarachnoid hemorrhage. *Neurology*, 54(4) :872–8, feb 2000.

- [62] W. M. van den Bergh, MASH Study Group, A Algra, S M Dorhout Mees, F van Kooten, C M F Dirven, J van Gijn, M Vermeulen, and G J E Rinkel. Randomized Controlled Trial of Acetylsalicylic Acid in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage : The MASH Study. *Stroke*, 37(9) :2326–2330, sep 2006.
- [63] A D Mendelow, G Stockdill, A J Steers, J Hayes, and F J Gillingham. Double-blind trial of aspirin in patient receiving tranexamic acid for subarachnoid hemorrhage. *Acta neurochirurgica*, 62(3-4) :195–202, 1982.
- [64] W. M. Bergh, A. Algra, G. J. E. Rinkel, and MASH Study Group. Magnesium and aspirin treatment in patients with subarachnoid haemorrhage. *Journal of Neurology*, 256(2) :213–216, feb 2009.
- [65] Bradley A. Gross, Pui Man Rosalind Lai, Kai U. Frerichs, and Rose Du. Aspirin and Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *World Neurosurgery*, 82(6) :1127–1130, dec 2014.
- [66] H Ono, M Mizukami, K Kitamura, and H Kikuchi. Ticlopidine : quo vadis? Subarachnoid hemorrhage. *Agents and actions. Supplements*, 15 :259–72, 1984.
- [67] S Suzuki, K Sano, H Handa, T Asano, A Tamura, Y Yonekawa, H Ono, N Tachibana, and K Hanaoka. Clinical study of OKY-046, a thromboxane synthetase inhibitor, in prevention of cerebral vasospasms and delayed cerebral ischaemic symptoms after subarachnoid haemorrhage due to aneurysmal rupture : a randomized double-blind study. *Neurological research*, 11(2) :79–88, jun 1989.
- [68] K Tokiyoshi, T Ohnishi, and Y Nii. Efficacy and toxicity of thromboxane synthetase inhibitor for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Surgical neurology*, 36(2) :112–8, aug 1991.
- [69] Mark C Wesley, Francis X McGowan, Robert A Castro, Sheahan Dissanayake, David Zurakowski, and James A Dinardo. The effect of milrinone on platelet activation as determined by TEG platelet mapping. *Anesthesia and analgesia*, 108(5) :1425–9, may 2009.
- [70] T Nakagomi, N F Kassell, T Sasaki, S Fujiwara, R M Lehman, and J C Torner. Impairment of endothelium-dependent vasodilation induced by acetylcholine and adenosine triphosphate following experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 18(2) :482–9.
- [71] H Ohkuma, K Ogane, S Fujita, H Manabe, and S Suzuki. Impairment of anti-platelet-aggregating activity of endothelial cells after experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 24(10) :1541–5; discussion 1545–6, oct 1993.
- [72] Jacoline Boluijt, Joost C M Meijers, Gabriel J E Rinkel, and Mervyn D I Vergouwen. Hemostasis and fibrinolysis in delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage : a systematic review. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 35(5) :724–33, may 2015.
- [73] S Juvela, M Kaste, and M Hillbom. Platelet thromboxane release after subarachnoid hemorrhage and surgery. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 21(4) :566–71, apr 1990.
- [74] Y Hirashima, S Nakamura, S Endo, N Kuwayama, Y Naruse, and A Takaku. Elevation of platelet activating factor, inflammatory cytokines, and coagulation factors in the internal jugular vein of patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurochemical research*, 22(10) :1249–55, oct 1997.

- [75] Y Fujii, S Takeuchi, O Sasaki, T Minakawa, T Koike, and R Tanaka. Serial changes of hemostasis in aneurysmal subarachnoid hemorrhage with special reference to delayed ischemic neurological deficits. *Journal of neurosurgery*, 86(4) :594–602, apr 1997.
- [76] E Vinge, L Brandt, B Ljunggren, and K E Andersson. Thromboxane B2 levels in serum during continuous administration of nimodipine to patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 19(5) :644–7, may 1988.
- [77] Mervyn D I Vergouwen, Kamran Bakhtiari, Nan van Geloven, Marinus Vermeulen, Yvo B W E M Roos, and Joost C M Meijers. Reduced ADAMTS13 activity in delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 29(10) :1734–41, oct 2009.
- [78] S Niikawa, S Hara, N Ohe, Y Miwa, and A Ohkuma. Correlation between blood parameters and symptomatic vasospasm in subarachnoid hemorrhage patients. *Neurologia medico-chirurgica*, 37(12) :881–4; discussion 884–5, dec 1997.
- [79] Noa Zemer-Wassercug, Moti Haim, Dorit Leshem-Lev, Katia L Orvin, Muthiah Vaduganathan, Ariel Gutstein, Ehud Kadmon, Aviv Mager, Ran Kornowski, and Eli L Lev. The effect of dabigatran and rivaroxaban on platelet reactivity and inflammatory markers. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 40(3) :340–346, 2015.
- [80] Argirios E Tsantes, Elias Kyriakou, Stefanos Bonovas, Maria Chondrogianni, Christina Zompola, Chrissoula Liantinioti, Athina Simitsi, Aristeidis H Katsanos, Maria Atta, Ignatios Ikonomidis, et al. Impact of dabigatran on platelet function and fibrinolysis. *Journal of the neurological sciences*, 357(1) :204–208, 2015.
- [81] Marcomaria Fontanella, Walter Valfrè, Franco Benech, Christian Carlino, Diego Garbossa, MariaFederica Ferrio, Rosa Perez, Maurizio Berardino, GianniBoris Bradac, and Alessandro Ducati. Vasospasm after SAH due to aneurysm rupture of the anterior circle of Willis : value of TCD monitoring. *Neurological research*, 30(3) :256–61, apr 2008.
- [82] Nicolien K de Rooij, Gabriel J E Rinkel, Jan Willem Dankbaar, and Catharina J M Frijns. Delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage : a systematic review of clinical, laboratory, and radiological predictors. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 44(1) :43–54, jan 2013.
- [83] Saadia R Chaudhary, Nerissa Ko, William P Dillon, Melissa B Yu, Songling Liu, Geoffrey I Criqui, Randall T Higashida, Wade S Smith, and Max Wintermark. Prospective evaluation of multidetector-row CT angiography for the diagnosis of vasospasm following subarachnoid hemorrhage : a comparison with digital subtraction angiography. *Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland)*, 25(1-2) :144–50, 2008.
- [84] Amanda Tarabini Fraticelli, Bernard P Cholley, Marie-Reine Losser, Jean-Pierre Saint Maurice, and Didier Payen. Milrinone for the treatment of cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 39(3) :893–8, mar 2008.
- [85] Teresa C Horan, Mary Andrus, and Margaret A Dudeck. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *American journal of infection control*, 36(5) :309–32, jun 2008.

- [86] Sanne M Dorhout Mees, Andrew J Molyneux, Richard S Kerr, Ale Algra, and Gabriel J E Rinkel. Timing of aneurysm treatment after subarachnoid hemorrhage : relationship with delayed cerebral ischemia and poor outcome. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 43(8) :2126–9, aug 2012.
- [87] Mark R Thomas, Robert F Storey, et al. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost*, 114(3) :449–458, 2015.
- [88] Costantino Iadecola and Josef Anrather. The immunology of stroke : from mechanisms to translation. *Nature medicine*, 17(7) :796–808, 2011.
- [89] J Raymond, C Ogoudikpe, A Metcalfe, I Salazkin, G Gevry, and O Robledo. Endovascular treatment with platinum coils recanalization is associated with early increased von willebrand factor mrna. *Interventional Neuroradiology*, 12(2) :93–102, 2006.
- [90] Satoru Beppu, Yasufumi Nakajima, Masayuki Shibasaki, Kyoko Kageyama, Toshiki Mizobe, Nobuaki Shime, and Naoyuki Matsuda. Phosphodiesterase 3 inhibition reduces platelet activation and monocyte tissue factor expression in knee arthroplasty patients. *Anesthesiology*, 111(6) :1227–37, dec 2009.

## Annexe A :

<b>Grade</b>	<b>Aspect TDM</b>	<b>% patients</b>	<b>Fréquence DID % (n)</b>	<b>Fréquence Inf. cér. %(n)</b>
0	Pas de sang	5 %	0 % (0/15)	0 % (0/15)
1	HSA minime, pas de sang dans les 2 VL	30 %	12 % (10/83)	6 % (5/83)
2	HSA minime, présence de sang dans les 2 VL	5 %	21 % (3/14)	14 % (2/14)
3	HSA importante*, pas de sang dans les 2 VL	43 %	19 % (22/117)	12 % (14/117)
4	HSA importante*, présence de sang dans les 2 VL	17 %	40 % (19/47)	28 % (13/47)
		100 %	20 % (54/276)	12 % (34/276)

\* : au moins 1 citerne ou scissure complètement remplie de sang.

VL: ventricules latéraux, DID: déficit ischémique différé, inf. cér: infarctus cérébral

FIGURE A.1 – Classification Fisher modifiée et risque de DCI (Delayed cerebral ischemia)

## Annexe B :

n	Age	Sexe	WFNS	Fisher	Localisation anevrysm	Nb artério	Infection	Détérioration clinique	Vasospasme	DCI	GOS
1	60	F	I	4	ACA G	3	NON	OUI	OUI	OUI	1
2	61	F	I	4	ACA + sylvienne D	2	OUI	OUI	OUI	OUI	4
3	46	F	I	4	ACA D	3	OUI	OUI	OUI	OUI	4
4	36	M	V	4	ACA	0	NON	NON	NON	NON	4
5	51	F	IV	4	cerebrale ant D	4	NON	OUI	OUI	OUI	3
6	58	F	V	4	ACA G	0	NON	NON	NON	NON	5
7	55	F	V	4	sylvien G	1	NON	OUI	OUI	NON	5
8	47	F	I	3	sylvien D	0	OUI	NON	NON	NON	5
9	66	M	II	4	ACA G	0	OUI	OUI	NON	NON	5
10	59	F	II	4	sylvien G	0	NON	OUI	NON	NON	4
11	62	F	II	4	sylvien G	0	NON	OUI	NON	NON	5
12	47	M	I	3	ACA	0	NON	NON	NON	NON	5

TABLE B.1 – Résumé des caractéristiques de chaque patient HSA.

n	Sexe	Age	Chirurgie	Anticoagulant
1	F	81	PTH	Eliquis
2	M	57	PTG	Eliquis
3	M	54	PTG	Pradaxa
4	F	66	PTG	Eliquis
5	F	61	PTG	Lovenox
6	M	73	PTH	Eliquis

TABLE B.2 – Résumé des caractéristiques de chaque patient Postop.

## Fonction plaquettaire et altération de l'hémostase après hémorragie sous arachnoïdienne

**Contexte :** Les mécanismes menant au vasospasme et à l'ischémie retardée après hémorragie sous arachnoïdienne anévrysmale (HSAa) ne sont pas complètement compris. L'activation plaquettaire et l'altération de l'hémostase pourraient être en lien avec le vasospasme et l'ischémie retardée. Nous avons étudié la fonction plaquettaire de patients avec HSAa au cours du temps, selon la présence d'une ischémie retardée puis comparé à des patients ayant une inflammation aiguë en lien avec une chirurgie orthopédique.

**Méthode :** Les prélèvements sanguins ont été analysés à J5 et durant la période à risque de vasospasme (J10) pour l'expression de GpIIbIIIa et P-selectine, et pour le niveau d'agrégation en présence d'agoniste. La fonction endothéliale était évaluée par dosage des facteurs VIII et von Willebrand.

**Resultats :** 12 HSAa de haut grade avec une prise en charge endovasculaire ont été incluses ainsi que 6 patients dans le groupe de chirurgie orthopédique. Les plaquettes des patients avec HSAa étaient activées et restaient activées au cours du temps, en particulier sur la voie de l'ADP. Les dosages en facteurs VIII et von Willebrand augmentaient avec l'ischémie retardée, démontrant une importante activation endothéliale. L'activation des plaquettes des patients HSAa et du groupe de chirurgie orthopédique était similaire.

**Conclusion :** Les plaquettes et l'hémostase primaire des patients HSAa présentent une altération sévère qui pourrait jouer un rôle dans les ischémies chez ces patients. Certains paramètres pourraient être utilisés comme biomarqueurs pour prédire l'ischémie retardée.

**Mots clés :** plaquette, hémorragie sous arachnoïdienne, vasospasme, ischémie retardée, angioplastie, inflammation, endothélium

## Platelet function and hemostasis alterations after aneurysmal subarachnoid hemorrhage

**Context :** Vasospasm and delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH) remain incompletely understood. Platelet activation and alterations in hemostasis might lead to vasospasm and Delayed Cerebral Ischemia (DCI). We investigated platelet function and hemostasis in aSAH patients over time and compared platelet function of patients with and without DCI. We detailed also platelet functions in SAH patients in comparison with the platelet functional profile obtained in patients having an acute inflammation related to orthopedic surgery

**Methods :** Blood samples were studied after aSAH onset (day 5) and then during period at risk of vasospasm (day 10) for the expression of GpIIbIIIa and P-selectin as well as the aggregation rate in the presence of agonists. Endothelium function was evaluated with plasma factor VIII and von Willebrand.

**Results :** 12 high grade aSAH with coiling aneurysm were include and 6 patients in Postop group. aSAH platelets were activated and remained activated over time, especially on the ADP pathway. Plasma factors increased with DCI, demonstrating a propensity towards endothelial activation. Platelets of SAH and Postop patients were similarly activated

**Conclusions :** aSAH patients showed severe alterations of platelet function and hemostasis that may play a role in the risk of clotting and ischemia. Some of the hemostasis alterations may be potential biomarkers that can be used to detect vasospasm.

**Keywords :** Platelet, subarachnoid hemorrhage, vasospasm, delayed cerebral ischemia, angioplasty, inflammation, endothelium

Université Paris Descartes  
Faculté de Médecine Paris Descartes  
15, rue de l'École de Médecine  
75270 Paris cedex 06