

PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE

Cours destiné aux étudiants de
4ème année de médecine.

Faculté de médecine de Constantine

DR.N.SALHI

PLAN

I-INTRODUCTION

II-Hémostase primaire:

- Intervenants
- Déroulement

III-La coagulation:

- Intervenants
- Déroulement

IV-Fibrinolyse

- Intervenants
- Déroulement

V-Exploration:

- A. Hémostase primaire
- B. Coagulation
- C. fibrinolyse

INTRODUCTION

DEFINITION:

- Hémostase: ensemble de mécanismes qui concourent à maintenir le sang à l'état fluide à l'intérieur des vaisseaux.



Arrêter les hémorragies



Empêcher les thromboses

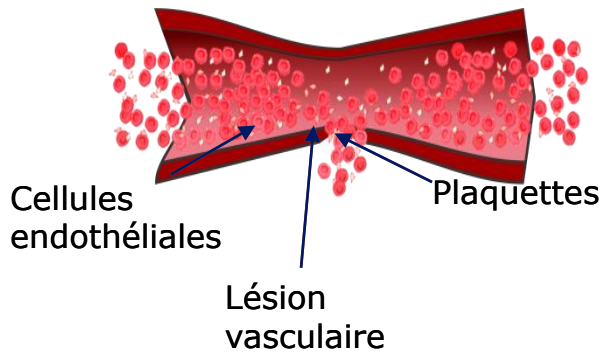
On distingue classiquement 03 temps:

- 1-L'hémostase primaire:** formation du thrombus blanc ou clou plaquettaire.
- 2- La coagulation:** transformation du thrombus blanc en un thrombus rouge fibrino-plaquettaire.
- 3- La fibrinolyse:** destruction des caillots sanguins et empêchement de leur extension.

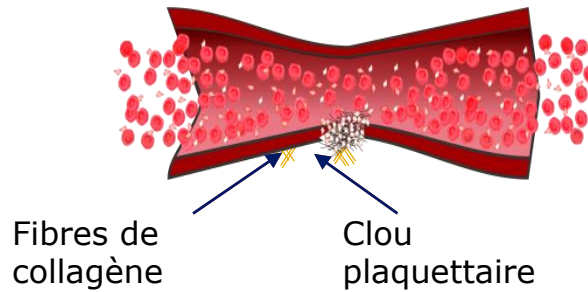
IN VIVO :

Les 03 temps sont interdépendants et déclenchés simultanément .

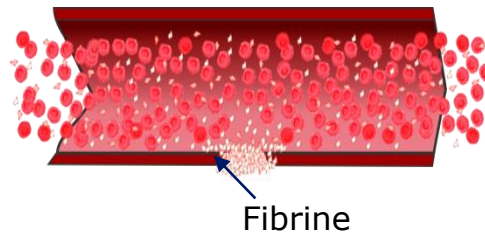
Hémostase normale : 3 principaux événements



Constriction des vaisseaux sanguins

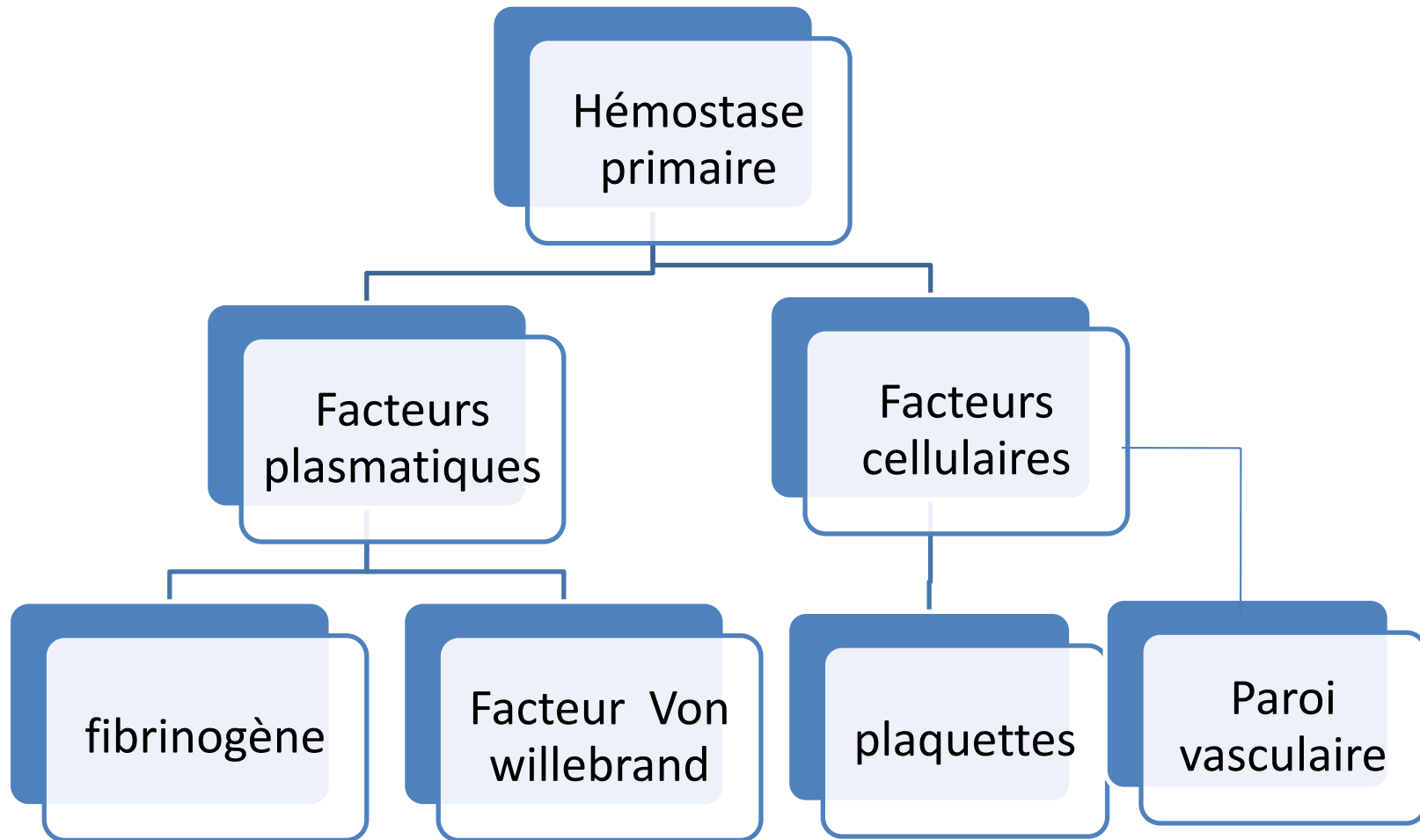


Formation du clou plaquettaire



Coagulation du sang

HEMOSTASE PRIMAIRE: intervenants



HEMOSTASE PRIMAIRE: intervenants

- 02 éléments plasmatiques:

- ❖ Le fibrinogène:

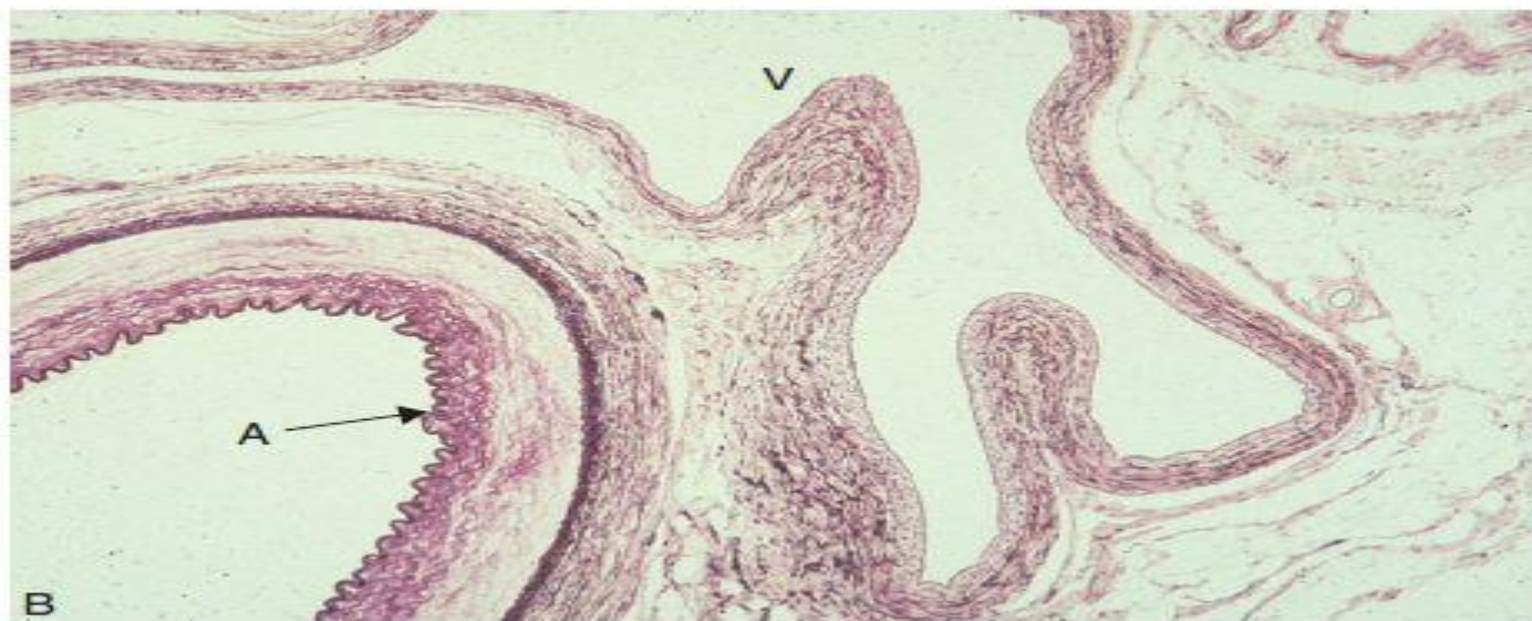
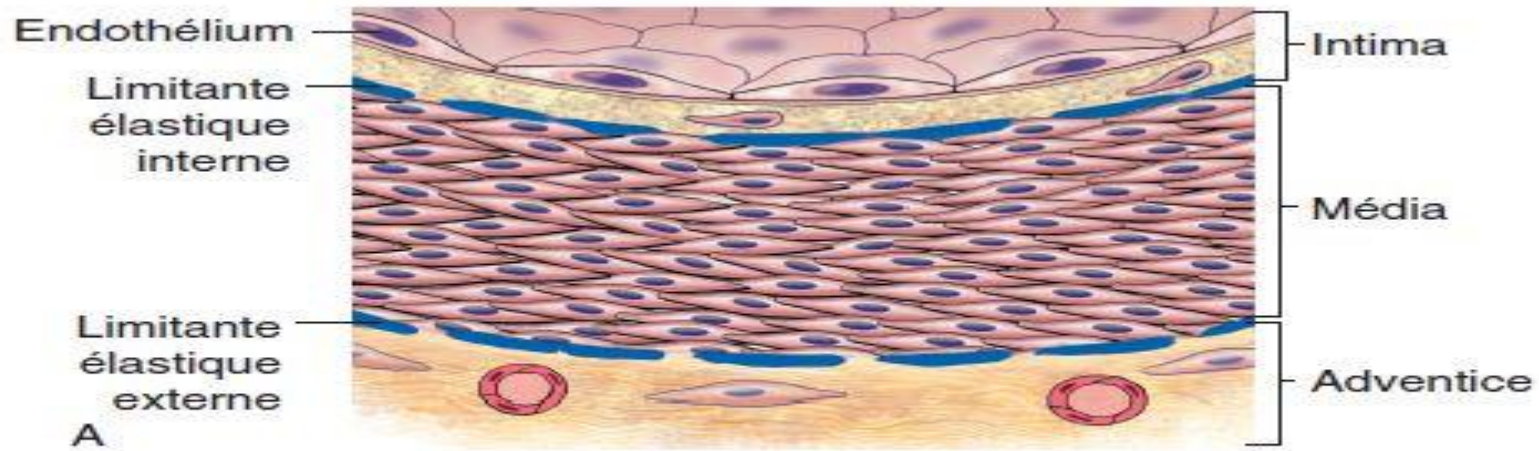
- ✓ Dimère synthétisé par l'hépatocyte.
 - ✓ Chaque monomère est composé de 03 chaînes : α ; β et γ .
 - ✓ Rôle: hémostase primaire + coagulation.

- ❖ Le facteur de Von Willebrand:

- ✓ Polymère hétérogène.
 - ✓ Synthétisé :cellules endothéliales; mégacaryocytes.
 - ✓ présent: plaquettes; cellules endothéliales et le sous endothélium.
 - ✓ Dans le plasma, il circule lié au facteur anti hémophilique A (facteur VIII) qu'il protège contre la protéolyse.

Paroi vasculaire

- **L'endothelium et le sous endothélium:**
 - Sous –endothélium: micro fibrilles avec collagène très thrombogène
- Les cellules endothéliales:
 - Fonction anti thrombotique
 - Fonction thrombogène
 - Fonction de synthèse: vWF, FT,tPA,PAI



HEMOSTASE PRIMAIRE: intervenants

➤ Membrane:

- ✓ double couche phospholipides.
- ✓ Glyco protéines: GPIb; GPIIb/IIIa
- ✓ Récepteurs divers: thrombine++

➤ A L'intérieur:

- ✓ Le système canaliculaire ouvert.
- ✓ Le système tubulaire dense.

➤ Dans le cytoplasme:

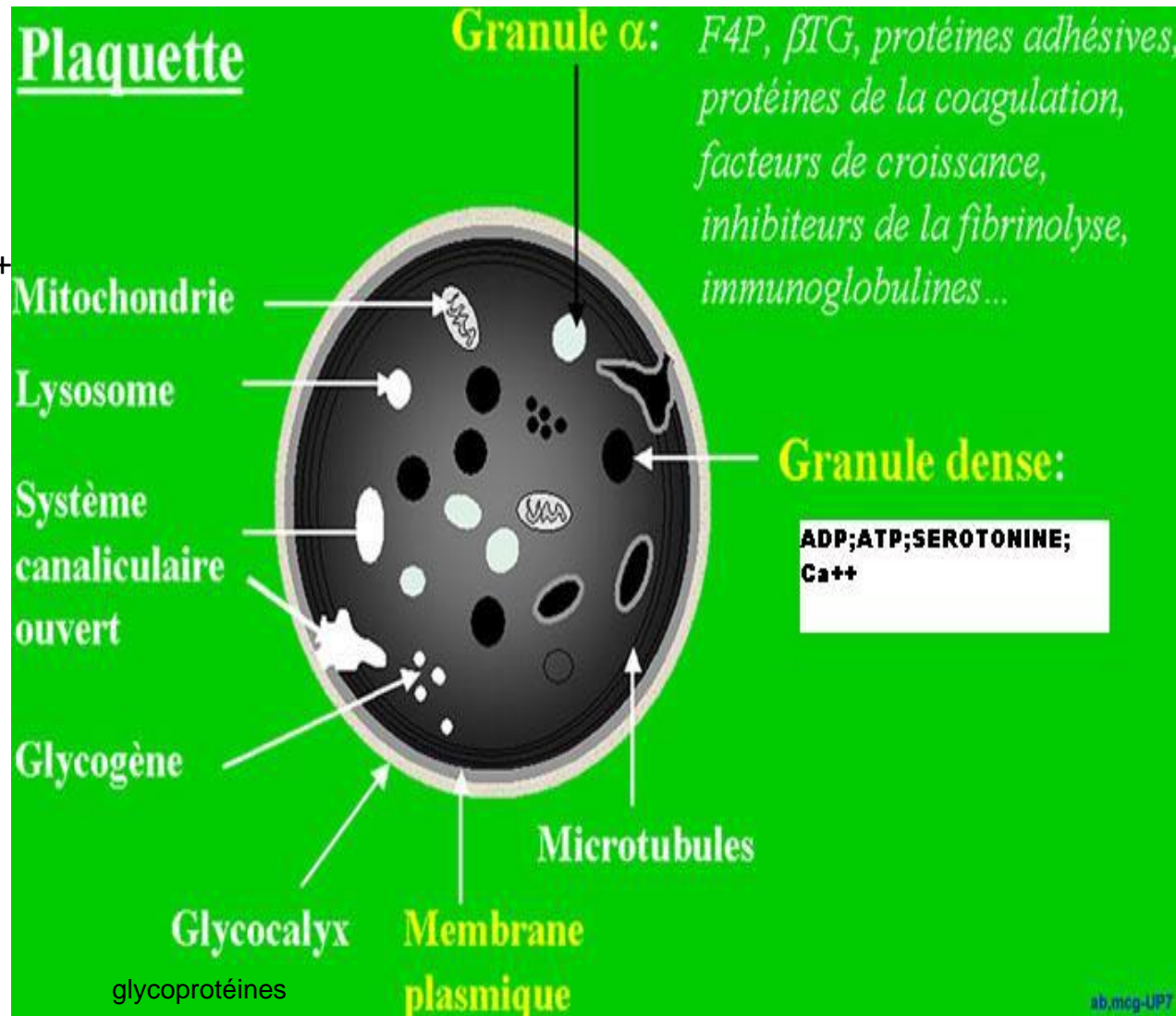
03 types de granulations:

- ✓ Granules denses: ATP; ADP; sérotonine et Ca^{++} .
- ✓ Granules α : F4P ; FVW ; Btg.
- ✓ Grains lysosomiaux: hydrolases, phosphatases.



Libération lors du déclenchement de l'hémostase.

➤ B- Les plaquettes



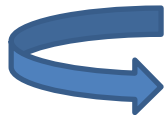
HEMOSTASE PRIMAIRE: déroulement

A -Le temps vasculaire:



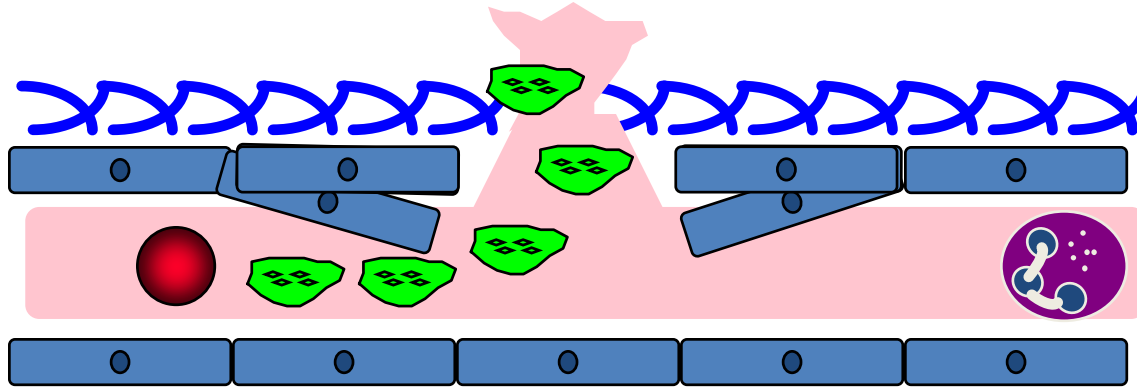
- **La vasoconstriction localisée:** 1^{ère} réaction de l'organisme qui vise à arrêter l'hémorragie ou à réduire le flux sanguin pour favoriser le processus d'hémostase.

B- Le temps plaquettaire:

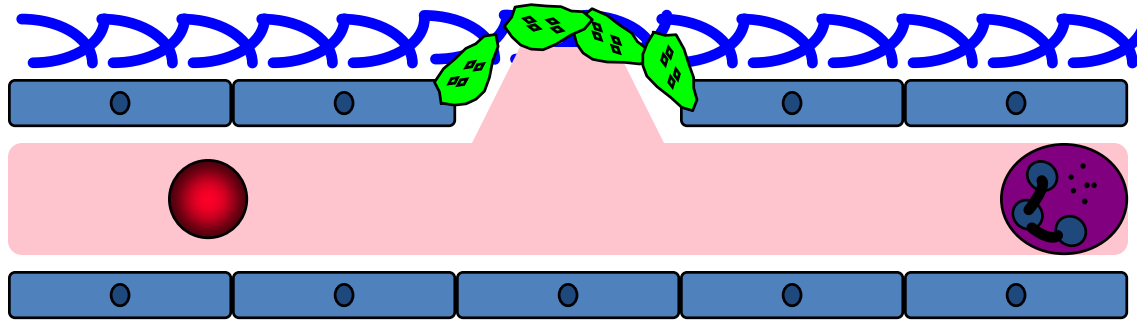


- **Adhésion plaquettaire.**
- **Activation/sécrétion plaquettaires.**
- **Agrégation plaquettaire.**

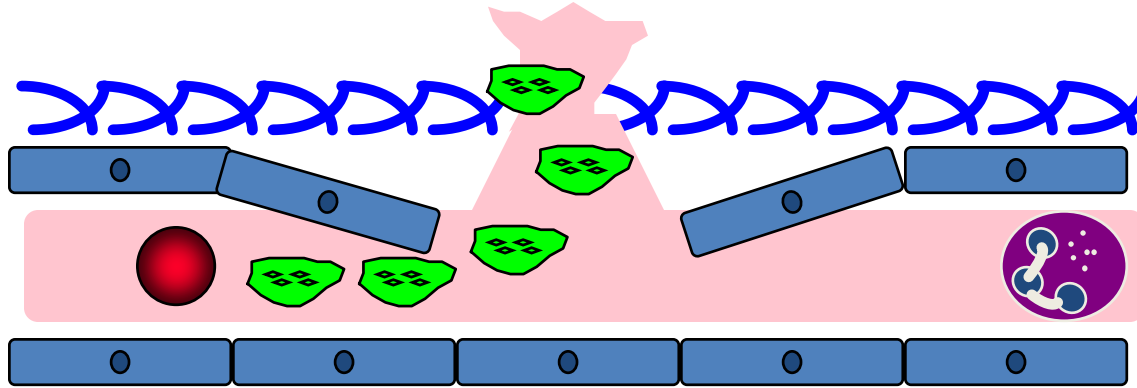
**Vaso-
constriction**



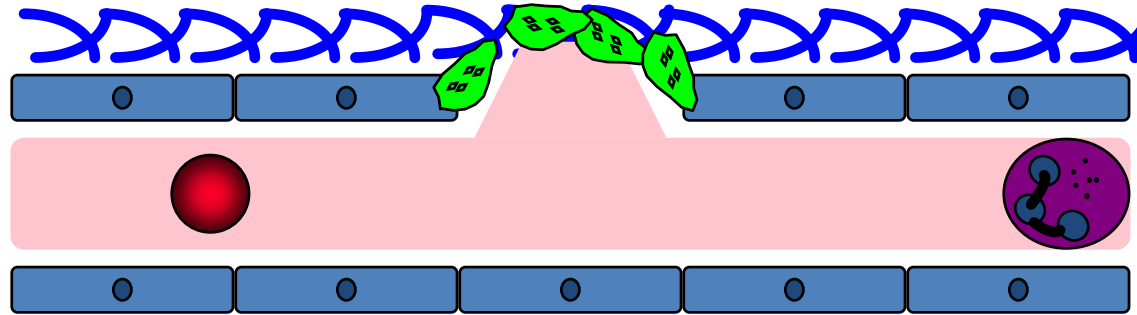
Adhésion



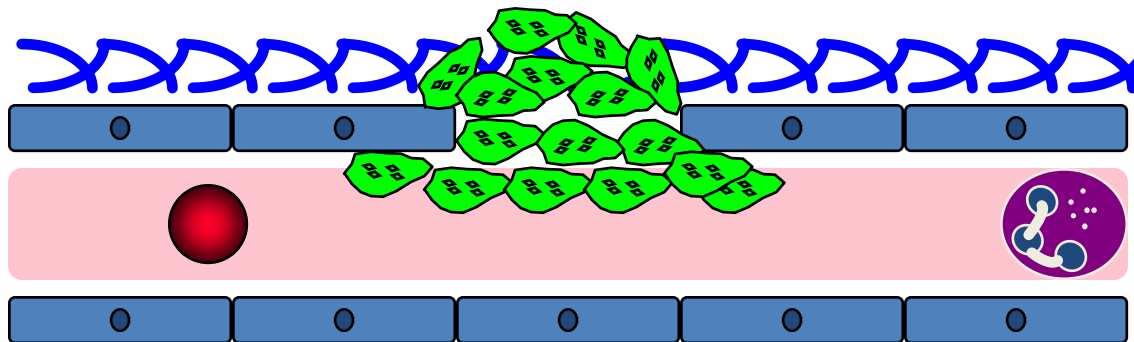
**Vaso-
constriction**



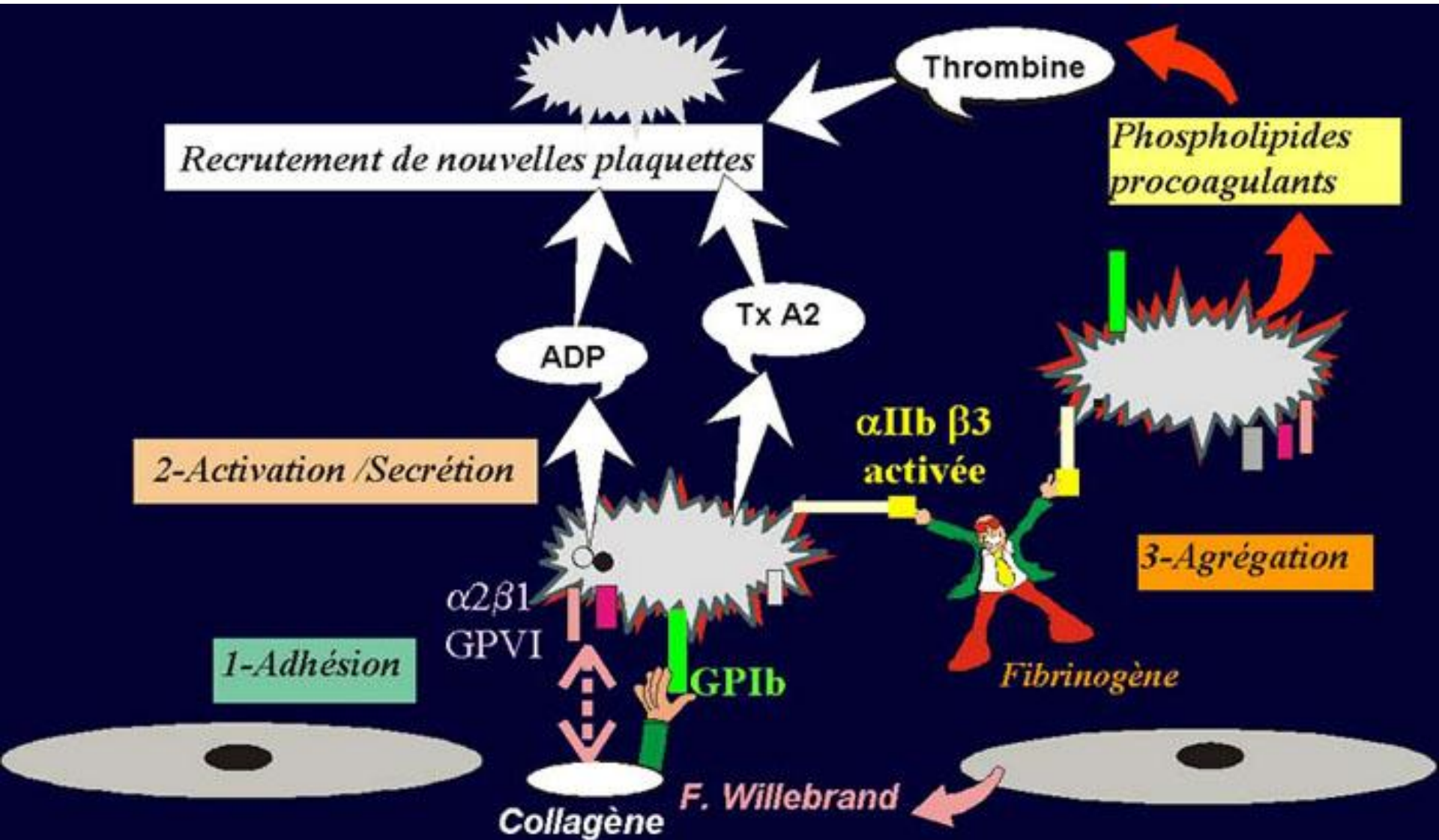
Adhésion



Agrégation



HEMOSTASE PRIMAIRE



LA COAGULATION: intervenants

DEFINITION:

cascade de réactions enzymatiques ayant pour objectif la consolidation du thrombus plaquettaire en transformant le fibrinogène en fibrine.

➤ **A- Les éléments cellulaires:**

- ✓ **Les fibroblastes:** expriment le facteur tissulaire.
- ✓ **Les plaquettes:** offrent une surface de catalyse aux réactions de coagulation.

B- Les éléments plasmatiques:

- **Les facteurs de coagulation et leurs inhibiteurs.**
- ✓ Ce sont des protéines plasmatiques synthétisées par l'hépatocyte.
- ✓ Il existe deux formes pour chaque facteur: une forme non active et une forme active.
- ✓ Chaque facteur à l'état activé pourra activer un autre facteur ou modifie certaines protéines impliquées ou non dans la coagulation.

	Masse moléculaire (kDa)	Fonction	Concentration plasmatique (mg/L)	Demi-vie plasmatique (h)
Facteurs de coagulation				
I (fibrinogène)	340	Substrat	2-4 x 10 ³	120
II (prothrombine)*	72	Zymogène	100-150	80
V Proaccélélerine	330	Cofacteur	5-10	24
VII* Proconvertine	50	Zymogène	0,35-0,6	6
VIII (f. antinémophilique A)	330	Cofacteur	0,1-0,2	12
X* Stuart	59	Zymogène	7-17	48
IX (f. antihémophilique B)*	57	Zymogène	3-5	24
XI Rosenthal	160	Zymogène	3-6	60
XII Hageman	80	Zymogène	30-40	60
XIII (f. stabilisant de la fibrine)	320	Zymogène	20-30	240
Prékallikréine	85	Zymogène	25-50	35
Kininogène de haut poids moléculaire	100	Cofacteur	60-90	150
Inhibiteurs de la coagulation				
Antithrombine	65	Serpine	180-300	60
Protéine C*	62	Zymogène	2,7-6	6
Protéine S*	70	Cofacteur	25	ND
HC II	65	Serpine	60-110	60
TFPI (Inhibiteur du facteur tissulaire)	42	Inhibiteur de type Kunitz	0,1	ND

COAGULATION: déroulement

La conception classique du phénomène de la coagulation

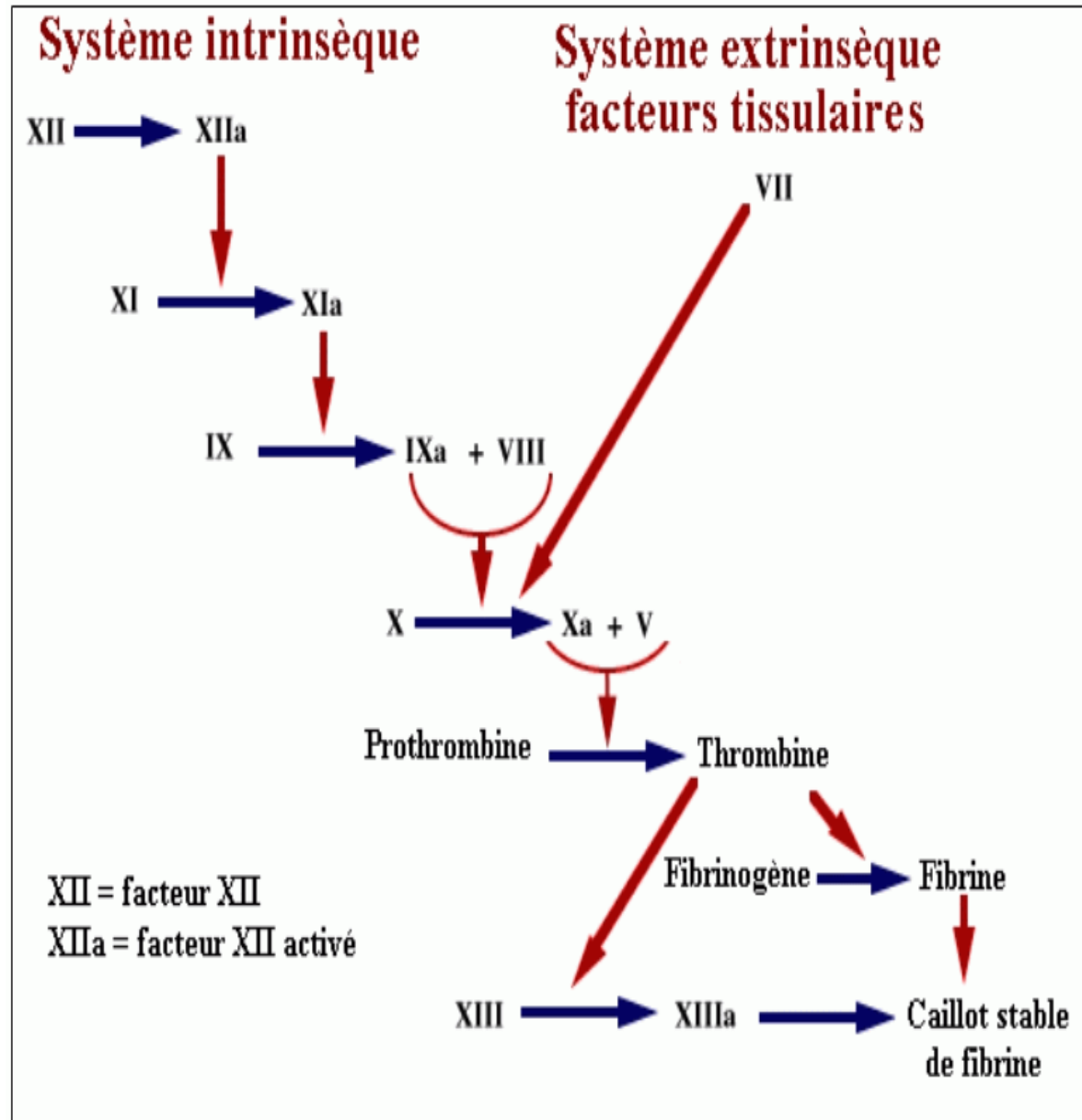


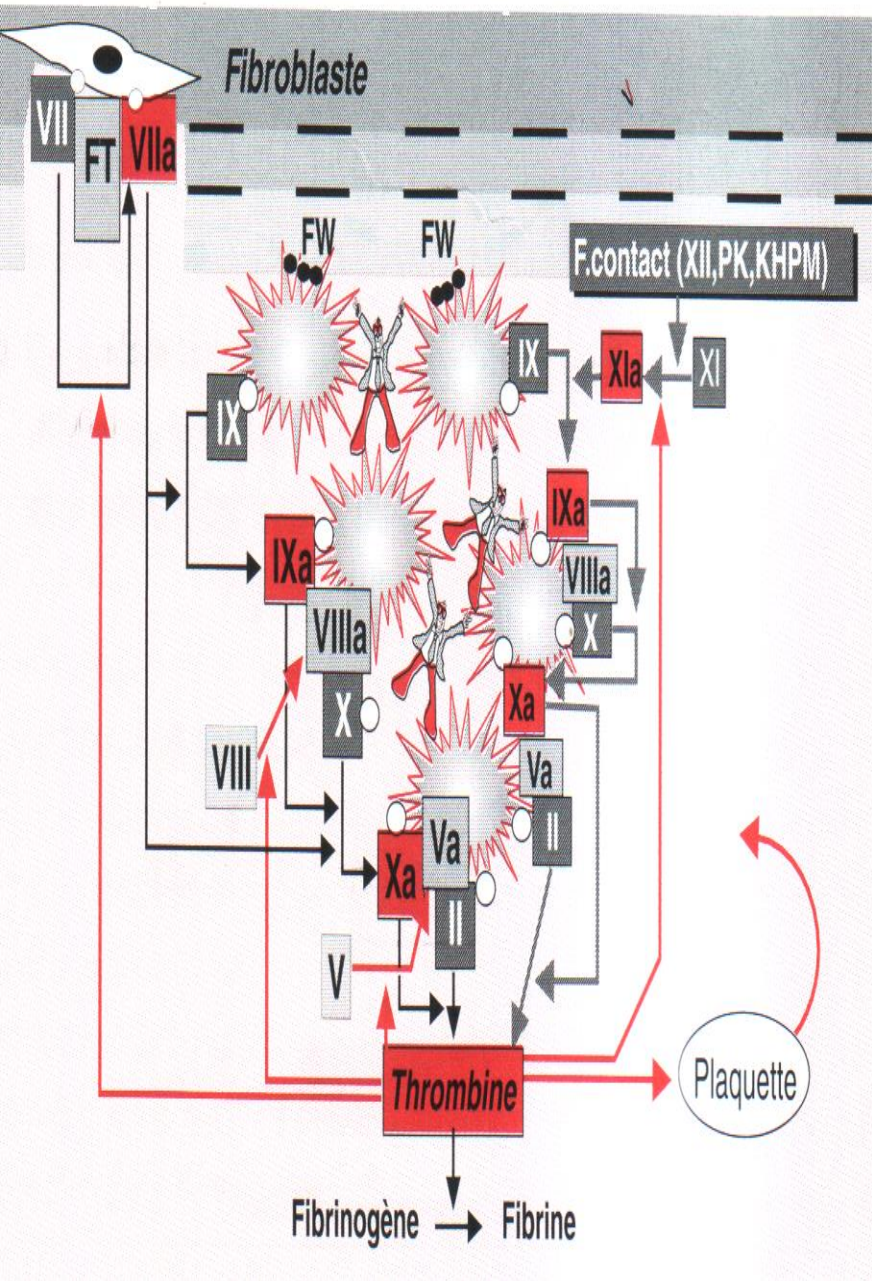
deux voies:

➤ **La voie intrinsèque:** tous les éléments de la coagulation sont présents dans le plasma sans support extérieur.

➤ **La voie extrinsèque:** son activation nécessite la présence d'élément tissulaire appelé thromboplastine tissulaire.

Cette conception de la coagulation correspond au processus de coagulation **in vitro** et sera utile pour **l'exploration de la coagulation**.





- **Rôle du système contact:**
 - ✓ Composé de 04 facteurs (XII; prekallikreine; KHPM; XI): rôle limité dans la coagulation in vivo.
 - ✓ Seul le facteur XI participant à la génération de la thrombine par une boucle de rétro-activation semble jouer un rôle important → hémorragies si déficit.
 - **Ca⁺⁺:**
 - ✓ rôle important dans la coagulation.

Coagulation in vivo:étapes

- **Initiation de la coagulation:**
 - **Contact facteur tissulaire – facteur VII**
 - **Objectif: La formation de la thrombine**
- **Amplification**
- **Fibrino formation**

Coagulation:déroulement

- **In vivo:**

cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la formation de **fibrine** et dont l'enzyme centrale est la **thrombine**.

- **Le déclenchement de la coagulation:** rôle+++ du facteur tissulaire.

- **La thrombinoformation:**

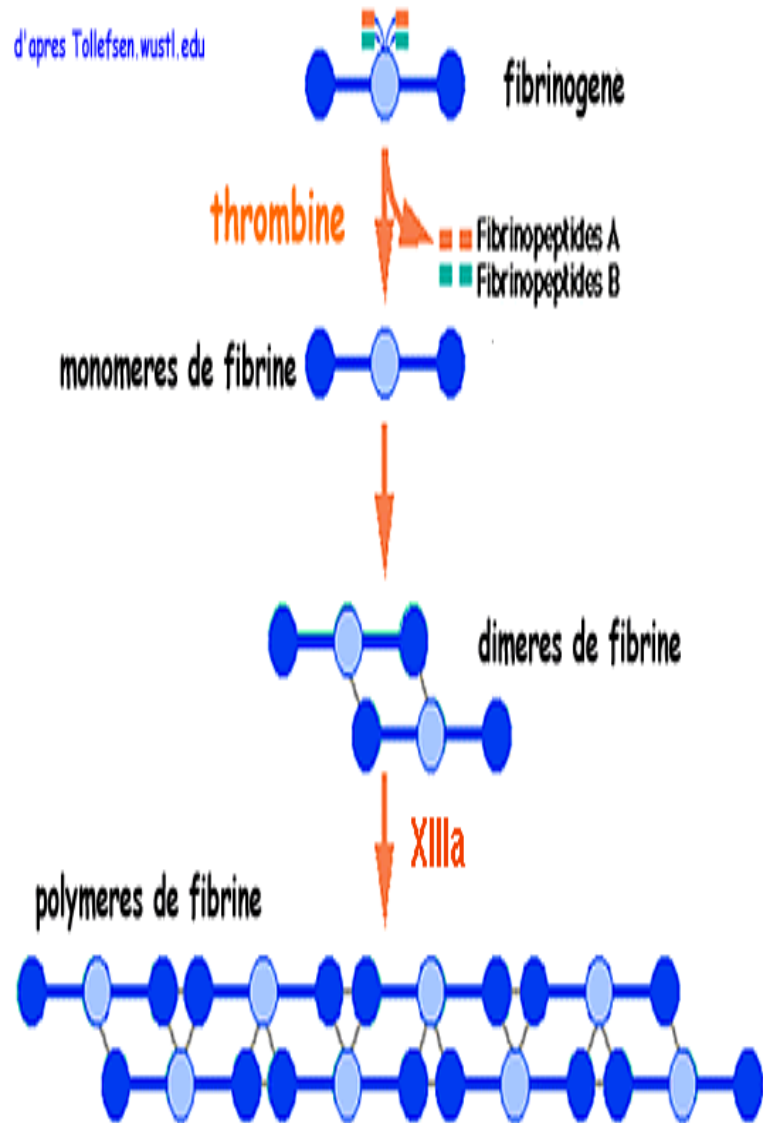
quelque soit la voie empruntée , le point central sera la génération du facteur Xa qui en présence du facteur Va, des phospholipides et du calcium forment le complexe **prothrombinase** qui active la prothrombine, et la transforme en thrombine dont le substrat principal est le fibrinogène.

➤ La fibrino formation:

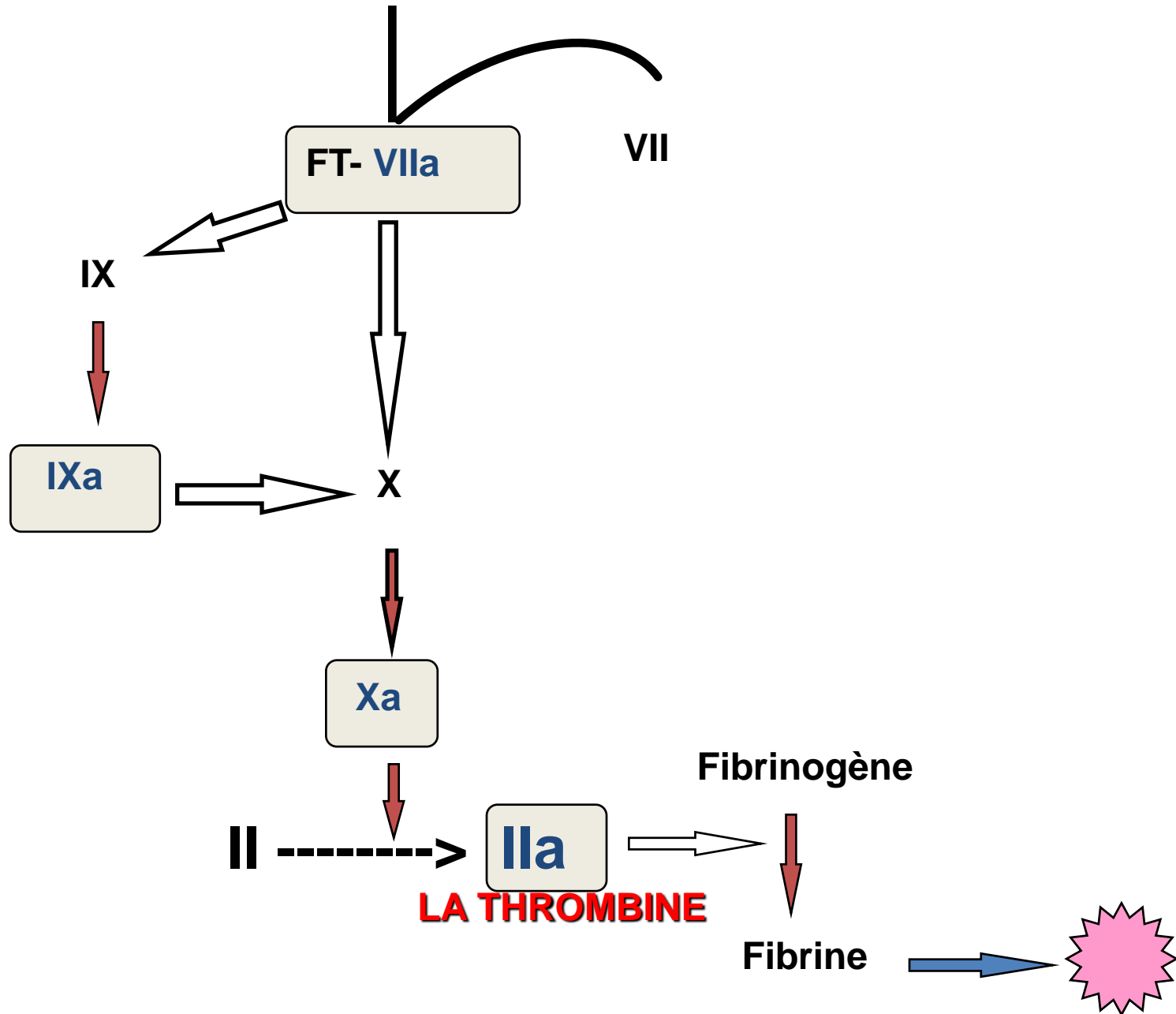


❖ Formation d'un réseau de fibrine ➔ plusieurs étapes:

- ✓ La thrombine clive deux peptides (A,B): monomères de fibrine.
- ✓ Stabilisation du réseau par des liaisons covalentes générées par le facteur XIII activé.

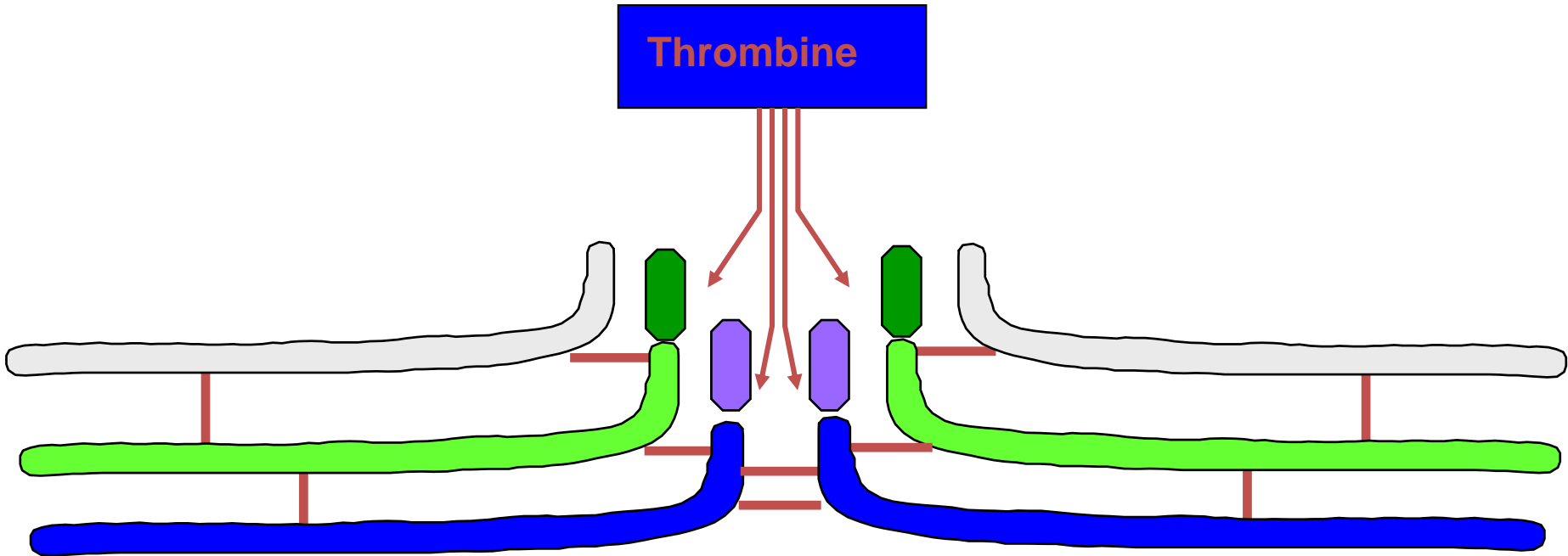


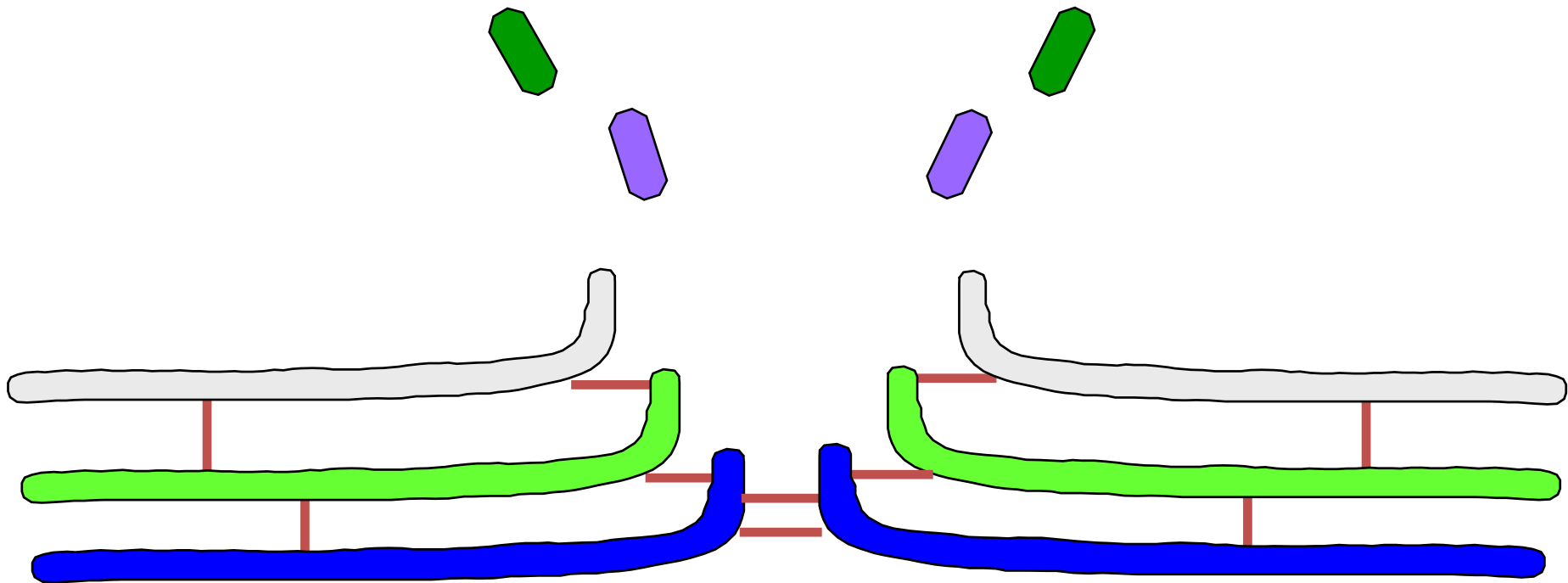
Facteur Tissulaire (FT)



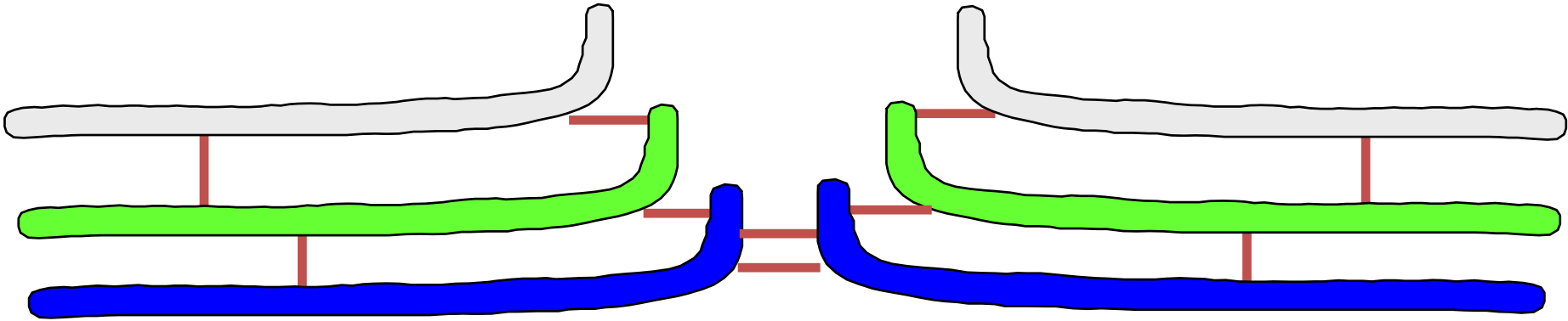
Fibrino formation

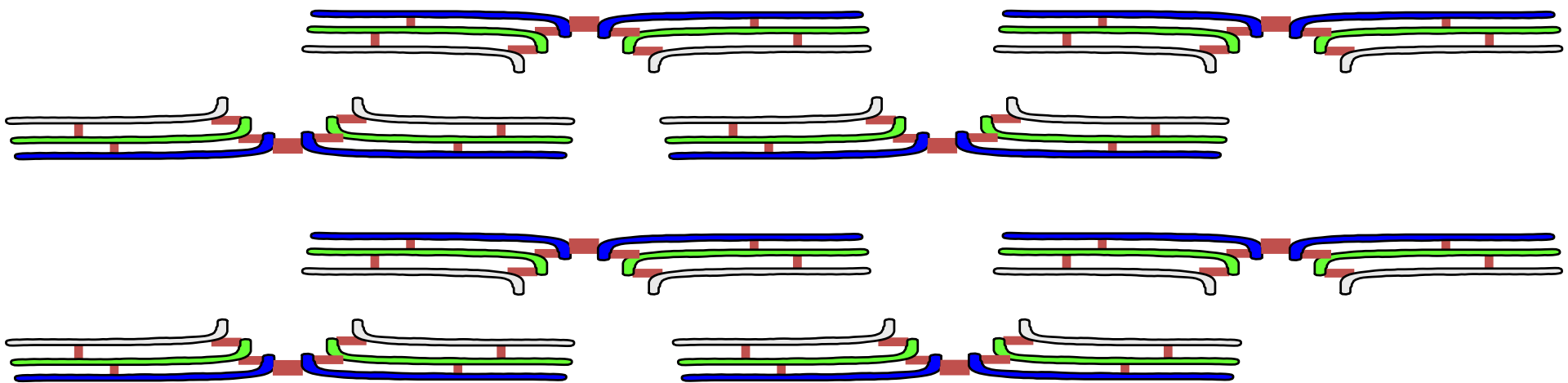
Thrombine



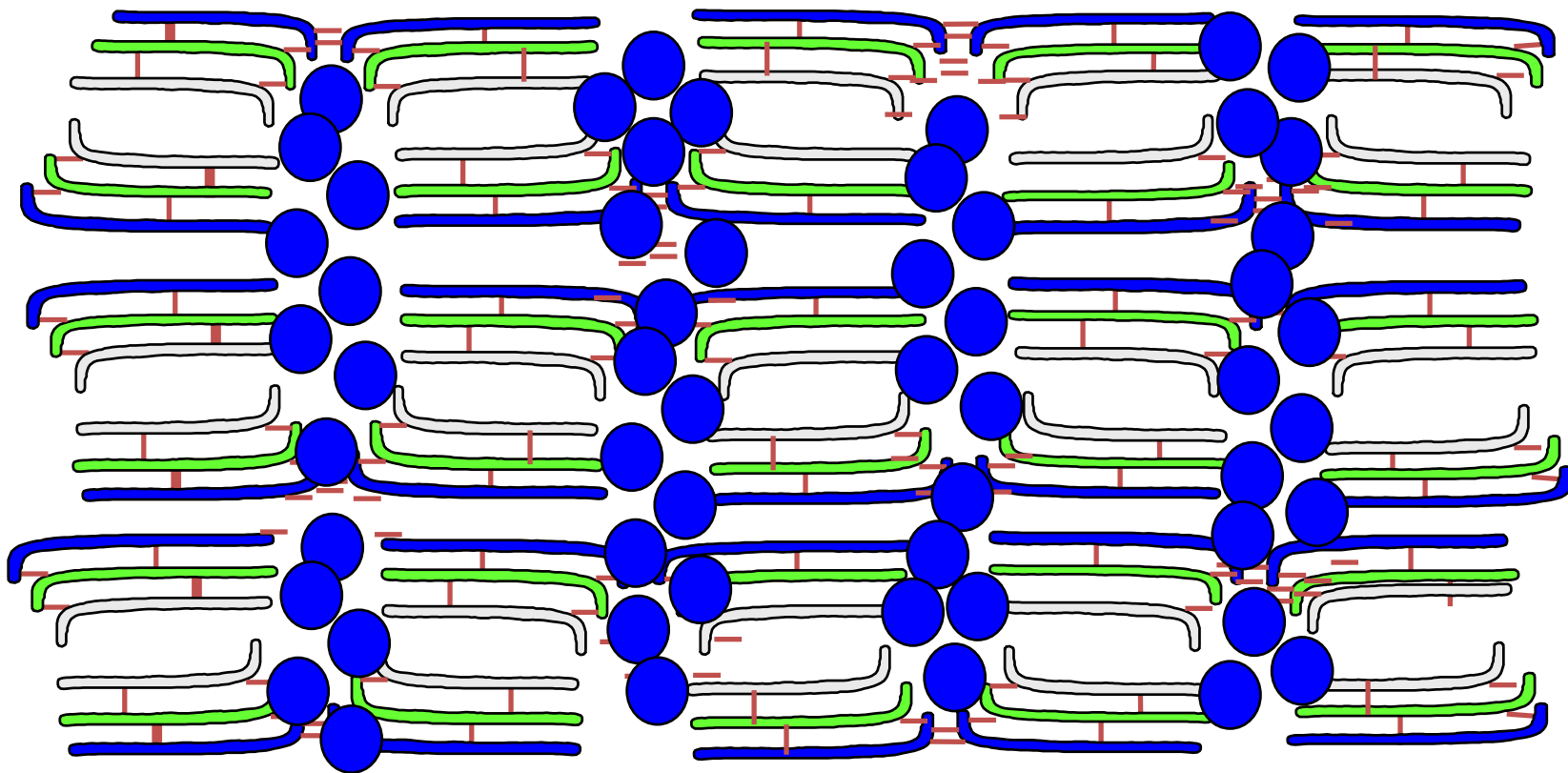


MONOMERE DE FIBRINE



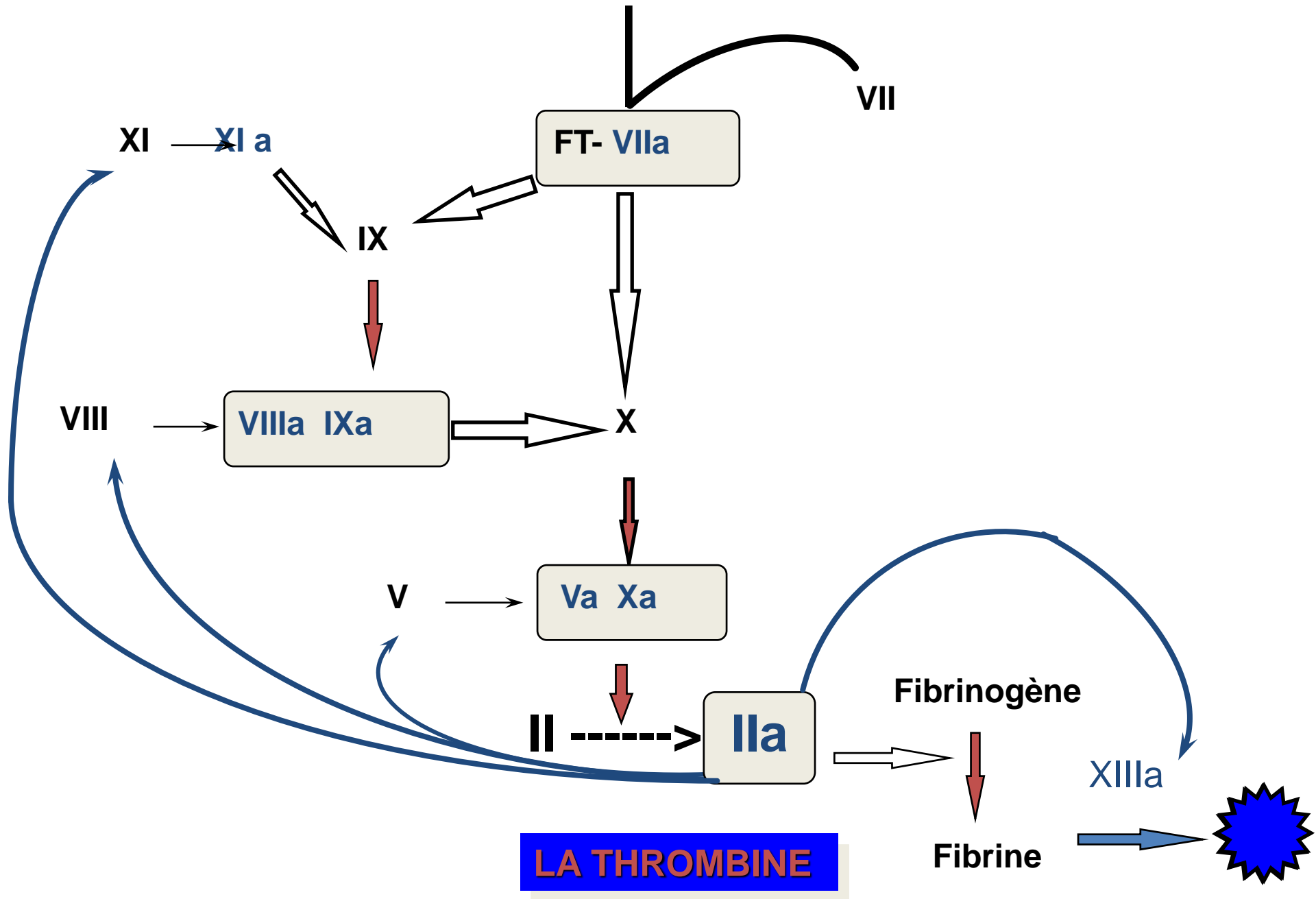


Polymérisation spontanée de la fibrine



Amplification

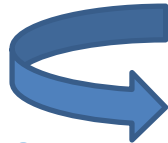
Facteur Tissulaire (FT)



Régulation de la coagulation

But:

- Limiter l'activation de la coagulation au niveau des brèches vasculaires .
- Empêcher l'extension des caillots.
- Maintenir l'équilibre des enzymes de la coagulation.



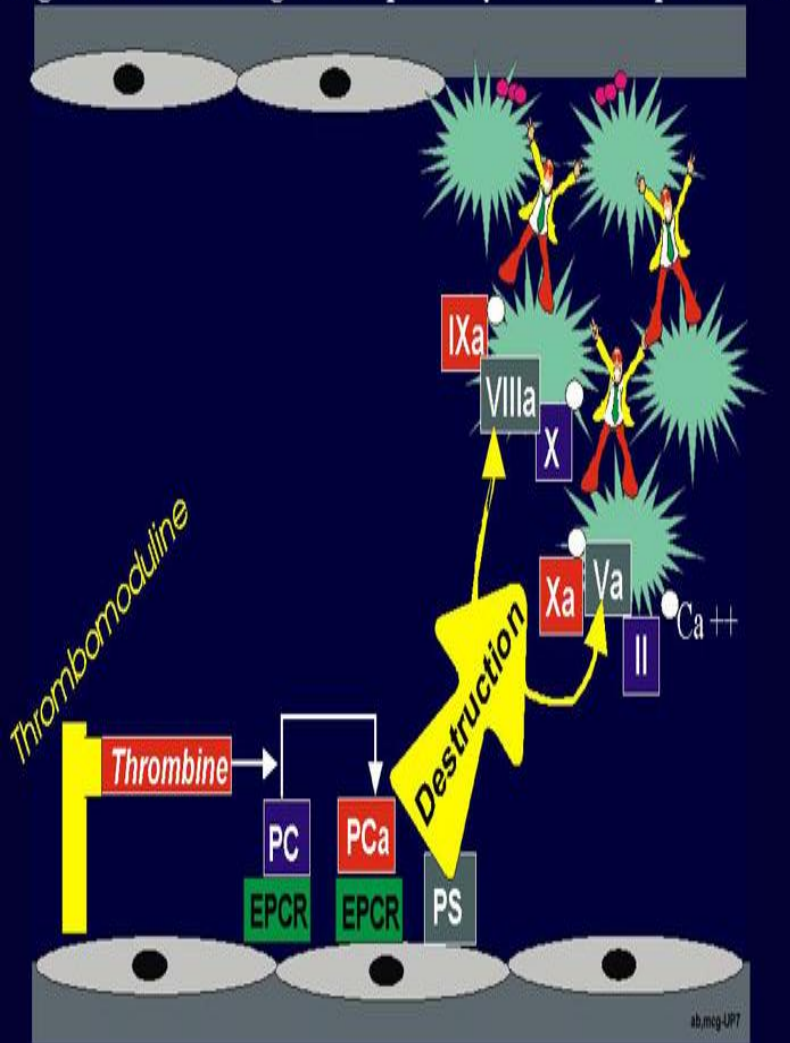
03 systèmes inhibiteurs:

- L'antithrombine.
- Le système protéine C-protéine S.
- LE TFPI(tissue factor pathway inhibitor).

ANTITHROMBINE (ex ATIII)

- Famille des **serpines**
- Forme un complexe équimoléculaire avec la sérine protéase qu'elle inhibe
- Inhibitrice de **Ila**, **Xa** mais aussi **IXa** et **XIa**
- Inhibition accélérée par la fixation de l'AT sur un **glycosaminoglycane**: héparane sulfate, héparine

Régulation de la coagulation par le système de la protéine C

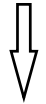


2. Le système protéine C-protéine S:

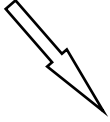
- Les protéines C et S sont vitamine K dépendantes.
- La protéine C:
 - ❖ Circule sous forme inactive.
 - ❖ Activée par la thrombine fixée sur la thrombomoduline (récepteur membranaire)
 - ❖ Substrats: FVa; FVIIIa.
 - ❖ Action ↗ par son cofacteur: la protéine S

Facteur Tissulaire (FT)

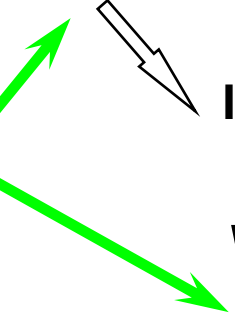
XII -> XII a



XI -> XI a



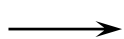
AT



IX



VIII



VIIIa IXa



FT- VIIa

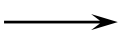
VII



X



V

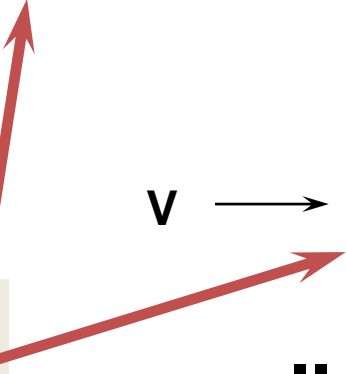


Va Xa

AT



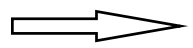
PCa



II



IIa



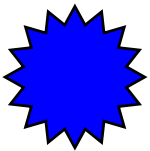
Fibrinogène



Fibrine

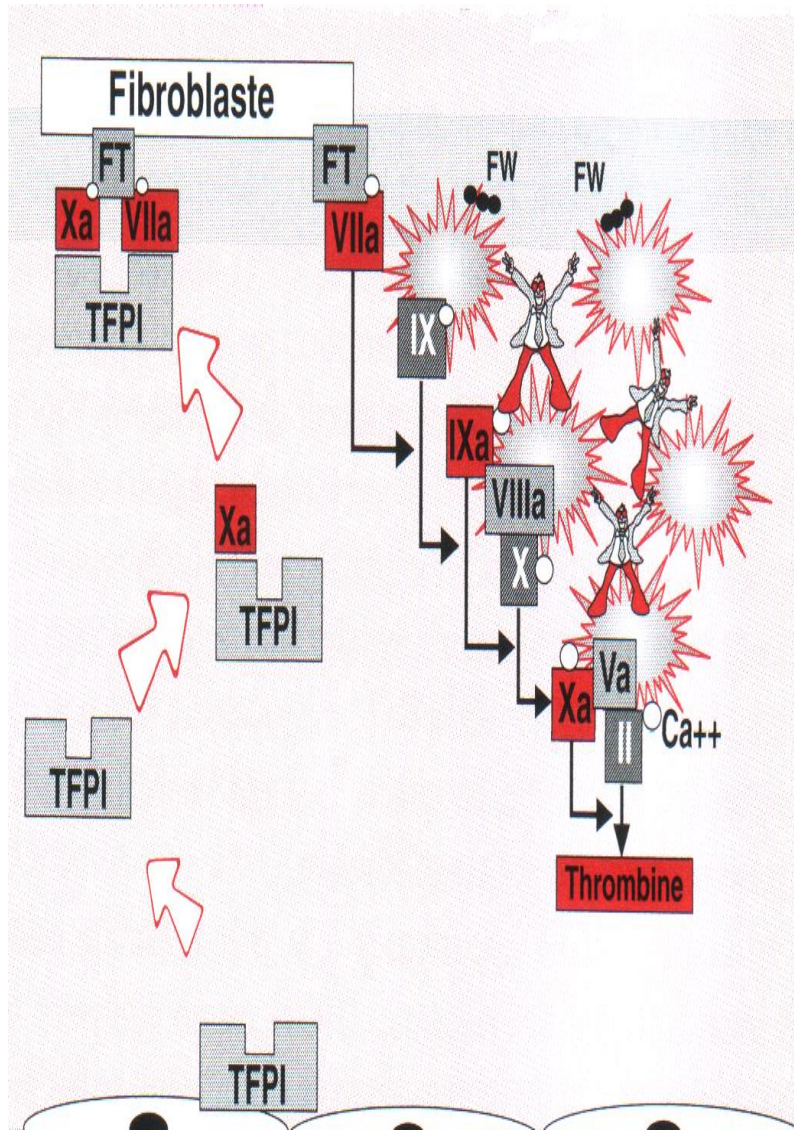


XIIIa



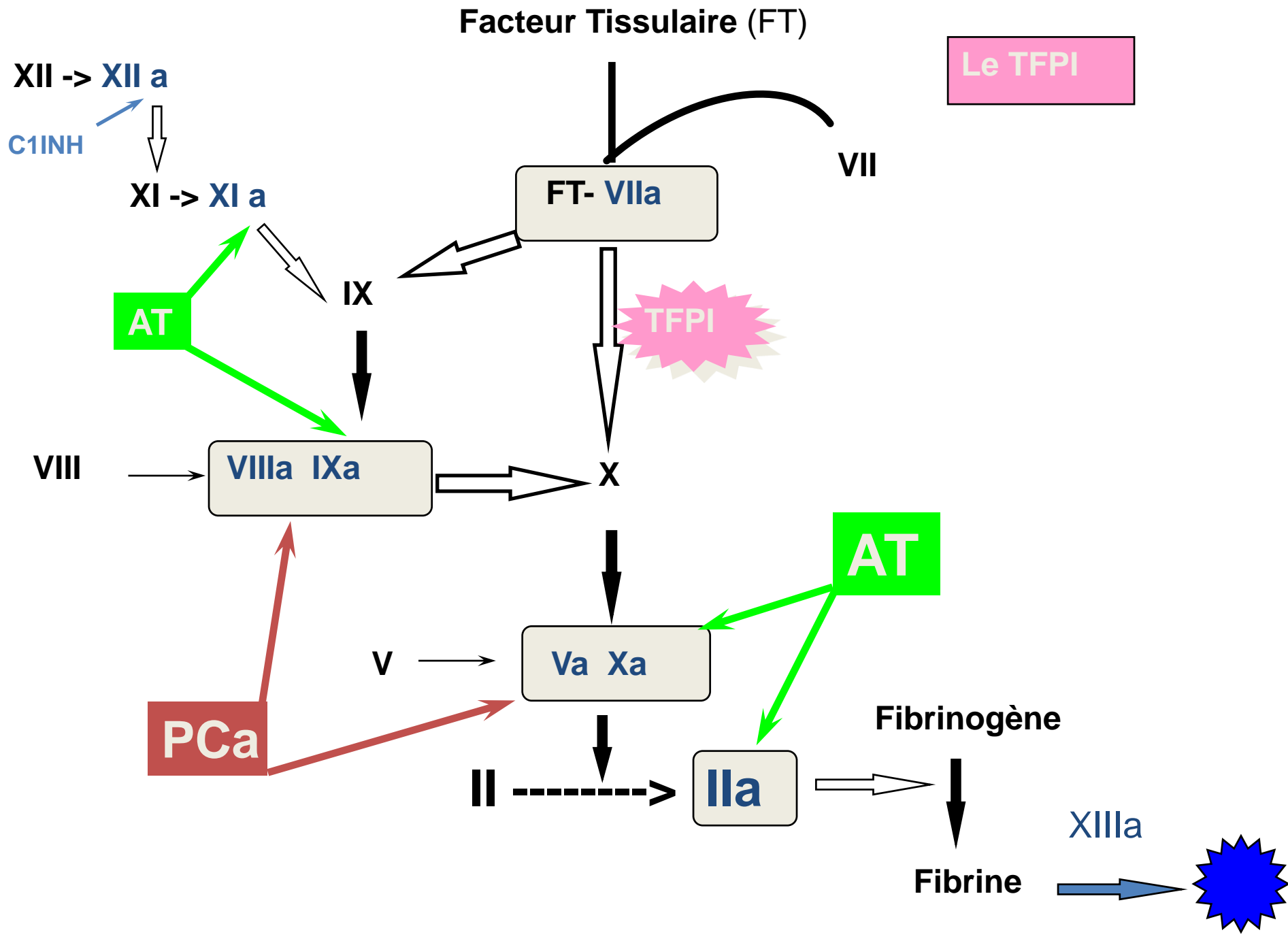
La Protéine C activée





3. Le TFPI(tissue factor pathway inhibitor):

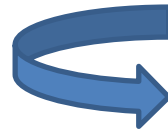
- Produit par l'endothélium et l'hépatocyte.
- Il est surtout associé à la membrane endothéliale.
- Une fois le processus de coagulation initié, il se lie au Fxa pour ensuite bloquer le complexe FT-F VIIa en formant un complexe quaternaire :Xa-TFPI-VIIa-FT.



III-LA FIBRINOLYSE: intervenants

But:

- Destruction des polymères de fibrine in situ pour empêcher l'extension du caillot.



- **02 facteurs plasmatiques:**

- ❖ **Le plasminogène et la plasmine**

- ✓ synthétisé au niveau du foie.
- ✓ Circule dans le plasma sous forme inactive.
- ✓ Activé ,il se transforme en **plasmine** .

FIBRINOLYSE: intervenants

- **Les éléments cellulaires:**

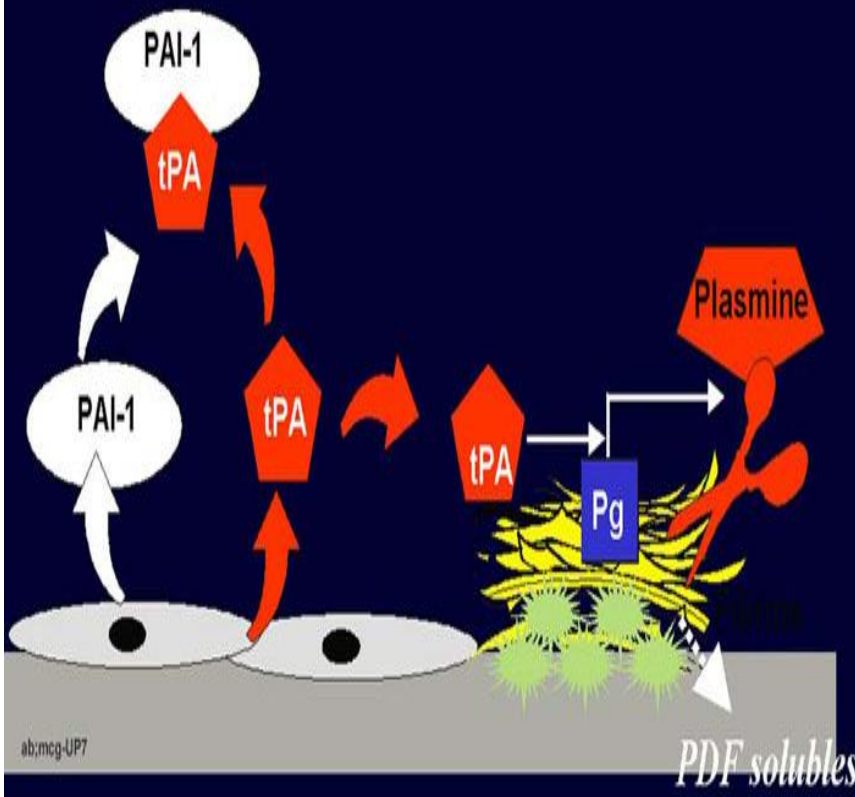
- **Les monocytes +les cellules endothéliales.**



- ✓ Synthèse des activateurs de la fibrinolyse:t-PA.
- ✓ Synthèse des inhibiteurs de la fibrinolyse: PAI.
- ✓ Une fois activées, elles expriment à leur surface des récepteurs pour le plasminogène, ses activateurs et ses inhibiteurs.

VOIES D'ACTIVATION DU PLSMINOGENE

Le système plasminogène-plasmine
Digestion de la fibrine



02 voies d'activation du plasminogène:


- ❖ **La voie de l'activateur tissulaire du plasminogène(t-PA):**
 - ✓ Synthétisé exclusivement par la cellule endothéliale.
 - ✓ Circule dans le sang lié à son inhibiteur: PAI-1.
 - ✓ Dès qu'il ya formation de fibrine, elle expose en surface des structures pour lesquelles le t-PA a une affinité très élevée.
- ❖ **La voie de la pro urokinase(U-PA):**
 - ✓ La forme circulante est la pro urokinase synthétisée par les cellules rénales
 - ✓ Au contact de la fibrine, elle s'active en urokinase.

FIBRINOLYSE: déroulement

Dés que se forment des traces de fibrine.


Libération du t-PA.


Activation du plasminogène en plasmine.


Activation de la pro urokinase en urokinase.


Les monocytes fixent l'urokinase.


Dégradation du caillot de fibrine.


Libération des **PDF :D-Dimères.**


La plasmine en excès est neutralisée par α_2 antiplasmine et α_2 macroglobuline:


localiser la fibrinolyse.



LA REGULATION DE LA FIBRINOLYSE

- 02 types d'inhibiteurs:

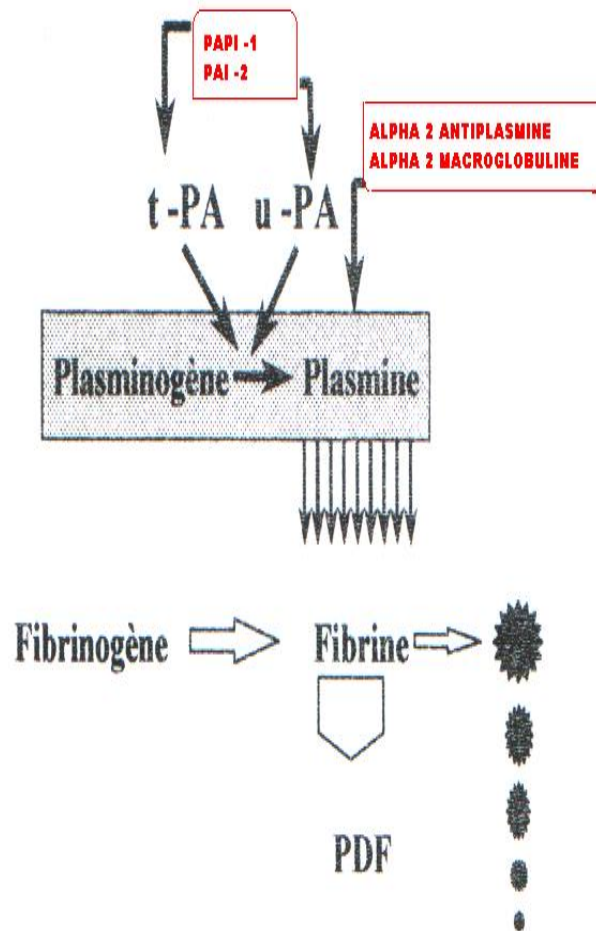


inhibiteurs de la plasmine:

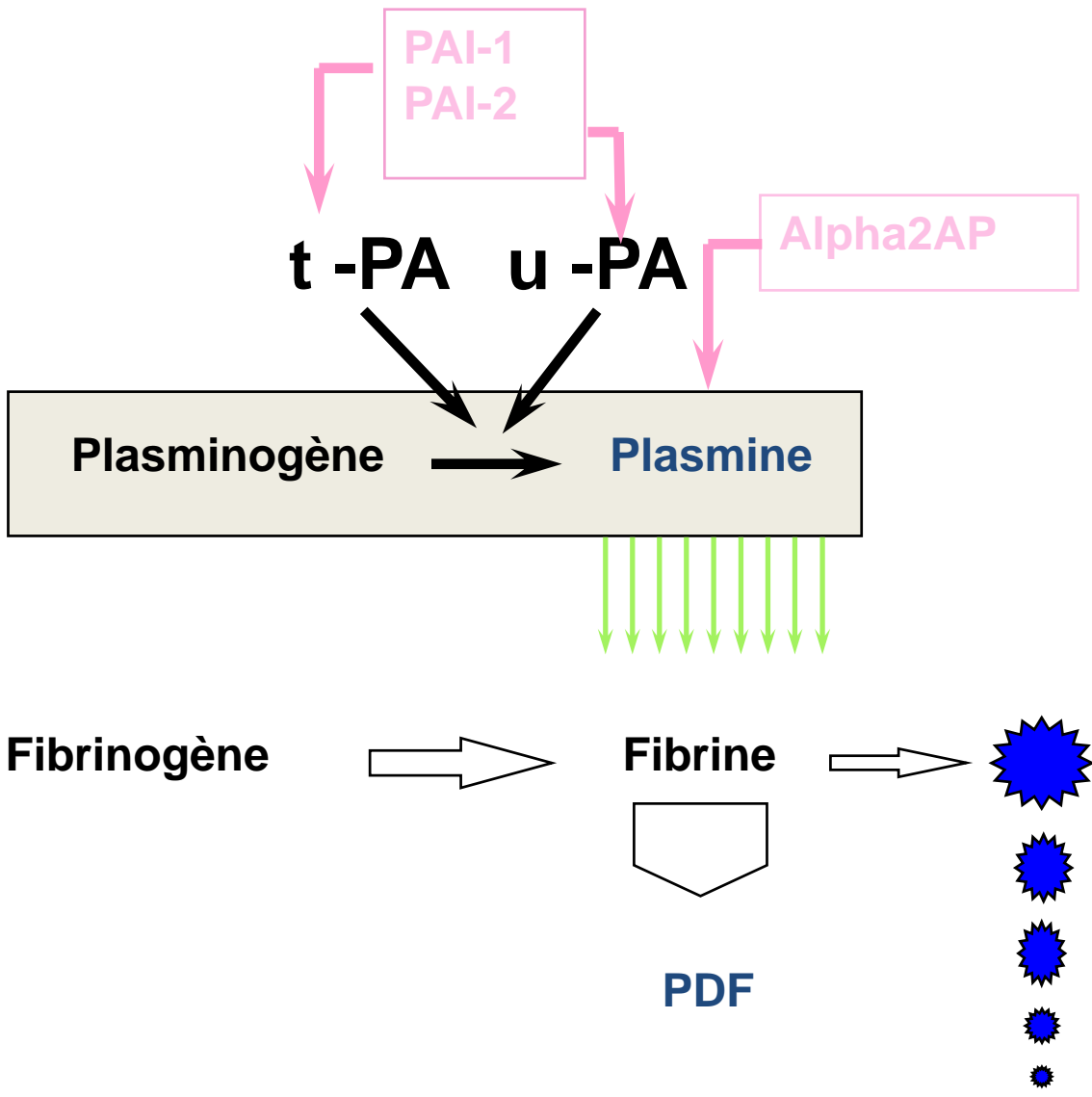
- ❖ $\alpha 2$ anti plasmine
- ❖ $\alpha 2$ macroglobuline

inhibiteurs des activateurs du plasminogène

- ❖ PAI-1: inhibiteur du t-PA.
- ❖ PAI-2: inhibiteur de l'urokinase.

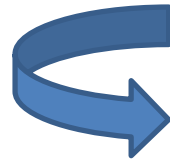


FIBRINOLYSE



CONCLUSION

- Le processus de l'hémostase primaire et de la coagulation aboutit à la formation d'un caillot.
- La fibrinolyse tend à le détruire.

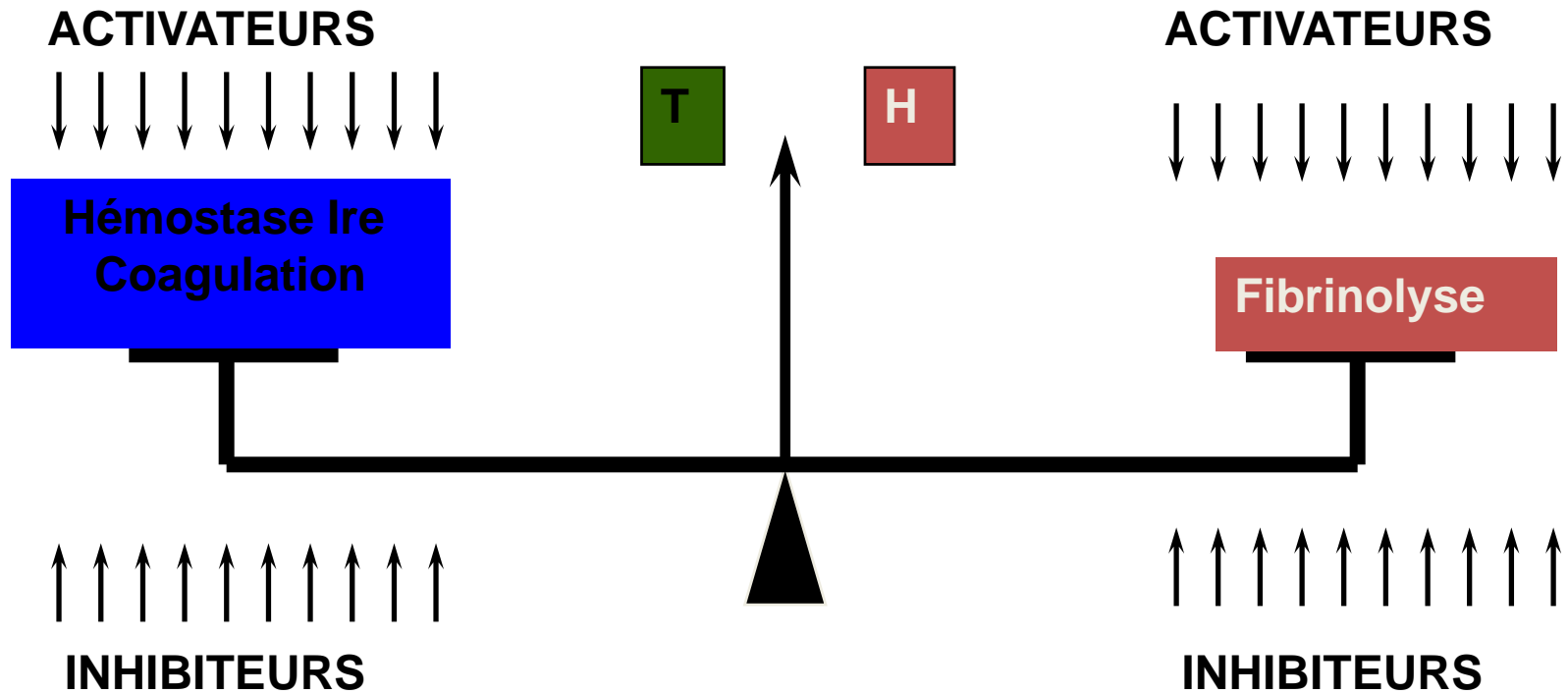


- Un équilibre permanent entre d'un côté l'hémostase primaire et la coagulation et d'un autre côté la fibrinolyse.



La balance coagulotique

La balance coagulative



EXPLORATION:HEMOSTASE PRIMAIRE

1-Numération de plaquettes :

- ✓ **Méthode:** compteur globulaire.
- ✓ **Valeur normale:** 150000 à 400000 elts/mm³.

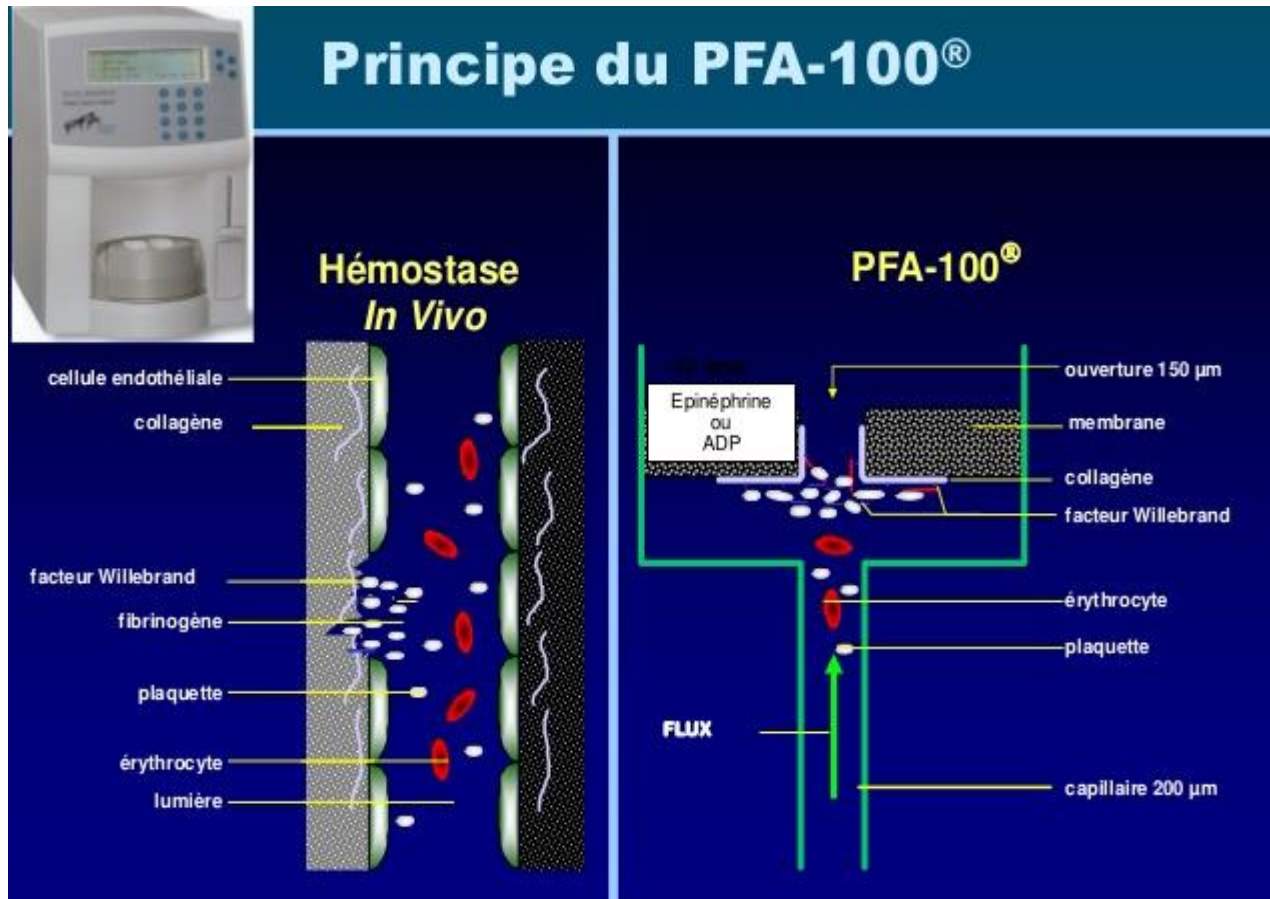
2-Temps de saignement: méthodes et valeurs normales:

- ✓ Test global d'exploration de l'hémostase primaire .
- ✓ La méthode d'ivy :incision sur la face antérieure de l'avant bras sous une pression constante de 40mm Hg
- ✓ Actuellement standardisée avec des lames automatiques (simplate,surgicut)
- ✓ La durée normale<8mn
- ✓ Il explore nombre et qualité des plaquettes, fibrinogene; Vwf et qualité du vx
- ✓ Il est fonction de l'hématocrite et opérateur dépendant
- ✓ Sa sensibilité est limitée
- ✓ Fiabilité faible en cas d'anomalie cutanée

3-Etude des fonctions plaquettaires:

✓ **Méthode:** temps d'occlusion (temps nécessaire à la formation du clou plaquettaire) appareil: PFA(100).

✓ **Principe:** étudie la capacité d'un échantillon de sang total citraté à former un clou plaquettaire en mesurant le temps d'adhésion et d'agrégation plaquettaire.



EXPLORATION:HEMOSTASE PRIMAIRE

3-Etude des fonctions plaquettaires:

- ✓ **Méthode:** temps d'occlusion (temps nécessaire à la formation du clou plaquettaire) appareil: PFA(100).
- ✓ **Principe:** étudie la capacité d'un échantillon de sang total citraté à former un clou plaquettaire en mesurant le temps d'adhésion et d'agrégation plaquettaire sur une membrane recouverte de collagène (en présence d'adrénaline ou d'ADP) dans des conditions de flux standardisés.
- ✓ Test inutilisable si thrombopénie.

- ✓ Dépiste la quasi totalité des maladies de willebrand

- ✓ Très sensible à la plupart des anomalies fonctionnelles plaquettaires
 - ✓ congénitales: Glanzman, Bernard-Soulier, pool vide
 - ✓ acquises: médicaments antiplaquettaires (aspirine)

- Si le TS ou le temps d'occlusion du PFA sont anormaux ,en l'absence de thrombopénie ou de prise de médicaments anti -agrégeant ,chacune des fonctions de plaquettes peut être étudiée in vitro de façon spécifique

EXPLORATION: COAGULATION

1



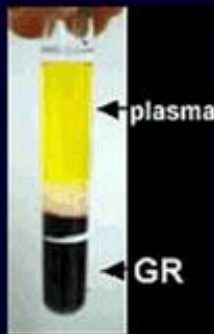
Le sang est prélevé Sur un chélateur du calcium (citrate par exemple) Afin de bloquer la coagulation

2



Le tube de sang est centrifugé à 2500g Pendant 10 minutes x 2 fois

3



Le plasma est conservé pour réaliser les tests; **il ne contient ni plaquettes, ni phospholipides et le Ca²⁺ est bloqué**

4

Pour initier la coagulation, il faudra ajouter
- du Ca²⁺, et des phospholipides
- Puis - soit du FT (TQ) pour activer le F.VIIa
- soit « un contact (TCA)-kaolin, silice etc...

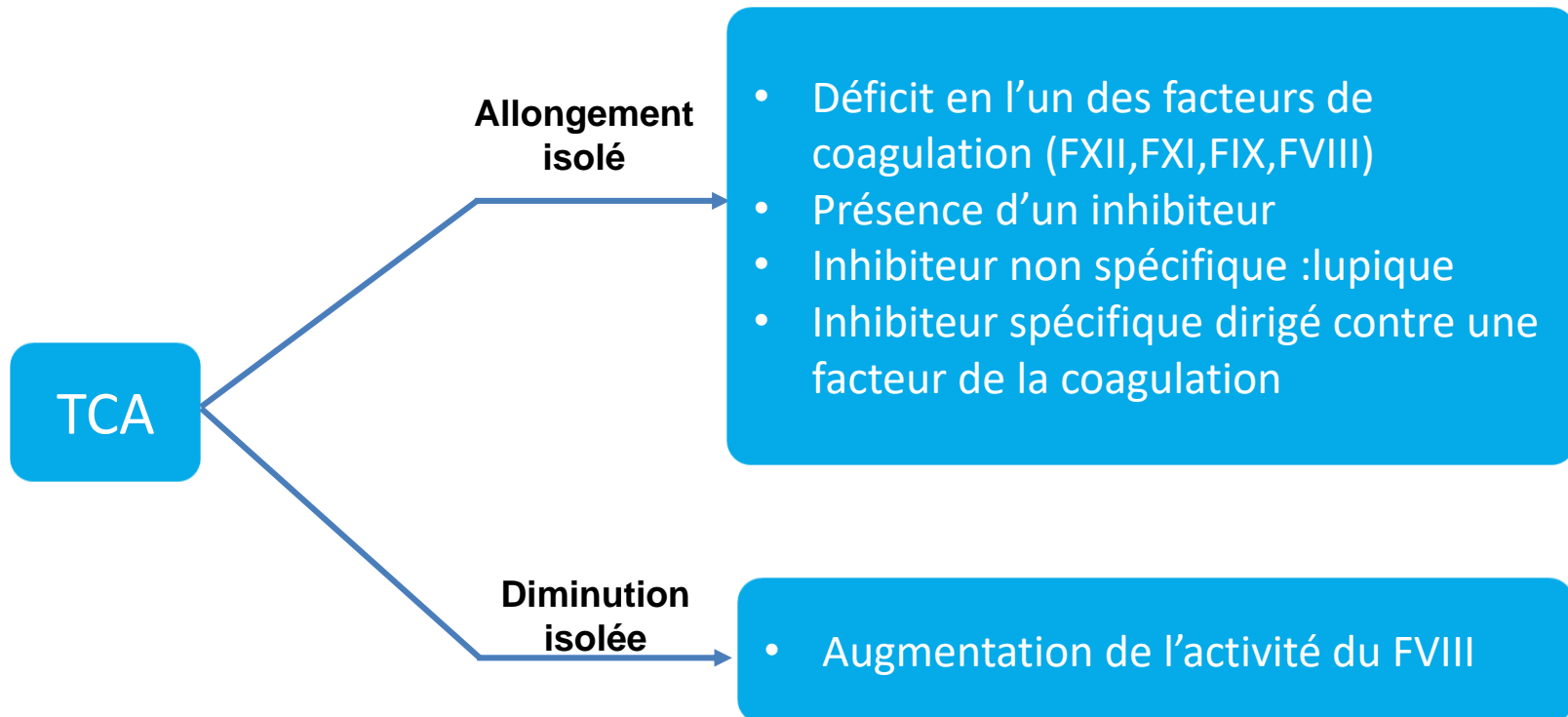
EXPLORATION:COAGULATION

I- Les tests globaux de coagulation:

1-Le temps de céphaline activé :

- ✓ **Principe:** mesurer le temps de coagulation à 37° d'un plasma en présence de phospholipides(céphaline) et d'un activateur de la phase contact (kaolin;célite;éllagique ou autre) et de ca⁺⁺.
- ✓ Le temps de coagulation mesuré est exprimé par rapport au temps d'un plasma témoin dont la valeur moyenne varie entre 30 et 40s
- ✓ **Le TCA: allongé >6 à 8 s le temps témoin**
- ✓ Peut être exprimé en **ratio :malade/témoin<1,2 ; chez l'enfant:1,3**
- ✓ Le TCA explore la voie endogène et commune de la coagulation:
FXII,kininogene,prékallikreine,FXI,FIX,FVIII,X,FV,FII,Fibrinogene
- ✓ Il sert à l'adaptatation posologique de l'héparine non fractionné
- ✓ Il est perturbé par les anticoagulants lupiques

Comment interpréter le TCA ?

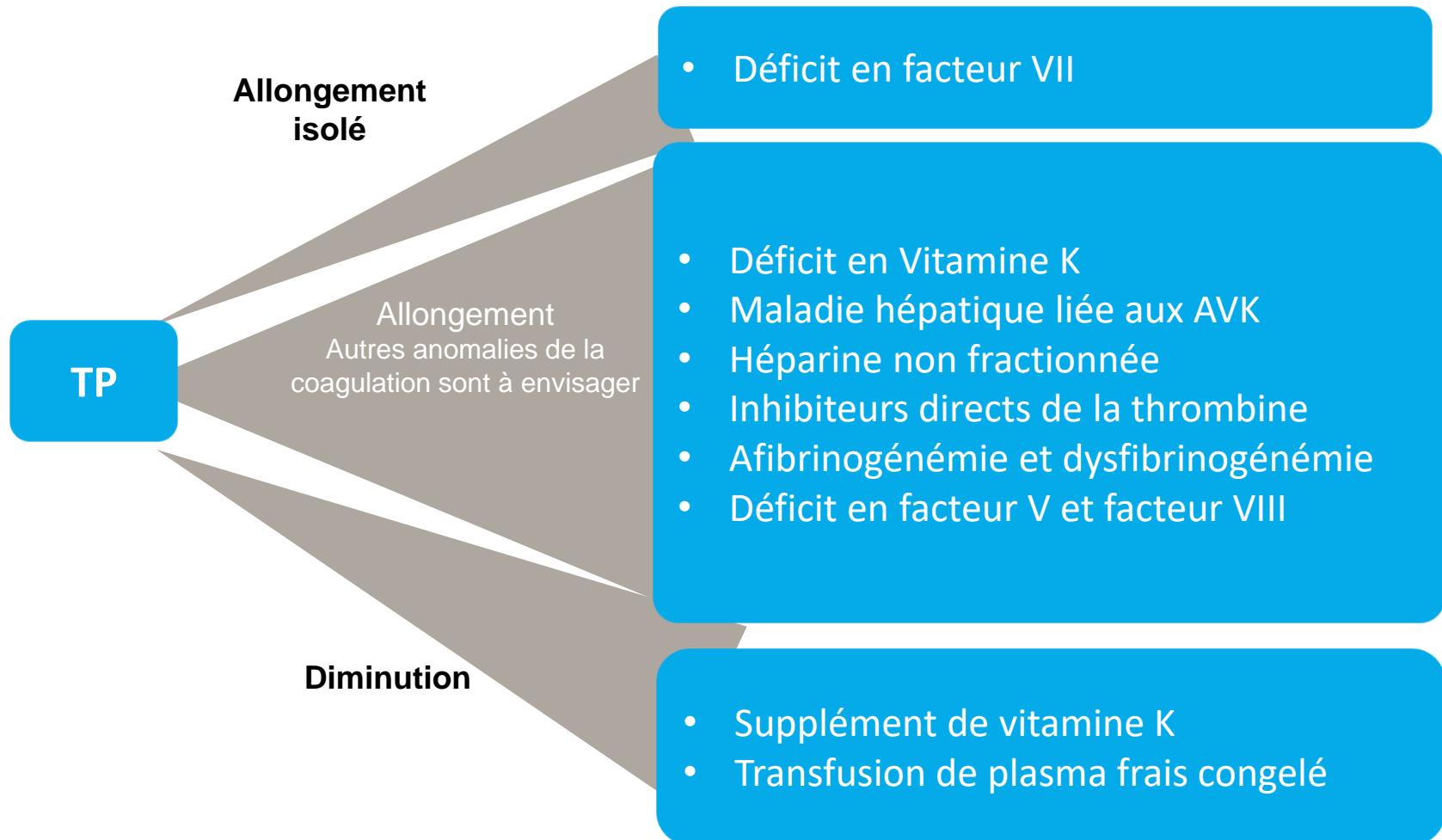


EXPLORATION:COAGULATION

2-Le temps de quick

- ✓ **principe:** mesurer le temps de coagulation à 37° d'un plasma en présence de thromboplastine (mélange de facteur tissulaire et de phospholipides et de ca⁺⁺).
- ✓ Les valeurs normales sont comprises entre 10 et 14s selon les réactifs utilisés
- ✓ Il est allongé si **TQ malade/TQ témoin > 1,2**
- ✓ En pratique ces valeurs sont transformées en pourcentage d'activité dits **taux de prothrombine (TP)** et la valeur normale : **70% à 100%**
- ✓ Il explore les voies exogène et commune de la coagulation : **FVII, FV, FX, FII et le fibrinogène**

Comment interpréter le test de TP ?



EXPLORATION:COAGULATION

➤ **Le temps de thrombine :**

✓ **Principe:**

- ❑ mesurer le temps de coagulation d'un plasma après apport d'une quantité connue de thrombine.
- ❑ La vitesse de coagulation est fonction de la quantité et la qualité du fibrinogène, ainsi que la présence ou non des inhibiteurs de la fibrinoformation.
- ❑ Les résultats sont exprimés en secondes par rapport à un témoin (M/T < 10sec)

➤ **Le dosage du fibrinogène:**

- ✓ La concentration plasmatique du fibrinogène peut être mesurer en utilisant des concentrations élevées de thrombine.
- ✓ Valeur normale: 2 à 4g/ dl.

➤ **Le temps de reptilase:**

✓ **principe:**

- ✓ transformer le fibrinogène en fibrine.
- ✓ Insensible à l'héparine; il permet d'identifier les allongements du temps de thrombine dus à l'héparine

EXPLORATION: COAGULATION

3-Le dosage du fibrinogène:

- ✓ La mesure du taux de fibrinogène se fait par méthode fonctionnelle
- ✓ Il est sensible aux déficits quantitatifs du fibrinogène et aux anomalies qualitatives de celui-ci (dysfibrinogénémie)
- ✓ Valeur normale: 2 à 4g/ dl.
- ✓ Il augmente en cas de syndrome inflammatoire

4-Dosage spécifique des facteurs de coagulation et leurs inhibiteurs:

- ✓ Ne sont effectués que si les tests de dépistage (TQ, TCA) sont allongés
- ✓ Tous les facteurs de coagulation peuvent être dosés individuellement

Les résultats sont exprimés en % de la normale.

La valeur normale est de 50% à 150%

EXPLORATION : FIBRINOLYSE

Tests globaux:

1-Temps de lyse d'un caillot de sang total : peu sensible.

2-Temps de lyse des eu globulines:

- **Principe:**

- évaluer l'activité fibrinolytique d'un plasma déplété en inhibiteurs par précipitation en milieu acide (PH 5,9).

- Le précipité d'eu globulines (facteurs de coagulation, plasminogène, plasmine, tPA, uPA) est recalcifié et le temps de lyse du caillot formé est mesuré.

- Valeur normale > 03h.

- Le temps de lyse est raccourci lorsque la quantité de tPA circulant augmente

EXPLORATION:FIBRINOLYSE

➤ Tests analytiques:

- ✓ Les dosages spécifiques du plasminogène, du tPA, de l'alpha 2antiplasmine, du PAI 1 et des autres inhibiteurs.
- ✓ Le dosage des produits de dégradation de la fibrine:
 - Les D dimères qui proviennent de la dégradation de la fibrine par la fibrinolyse physiologique.
 - Ils sont le témoin d'un processus thrombotique évolutif.