

Physiologie de l'hémostase

Définition :

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes qui concourent à maintenir le sang à l'état fluide à l'intérieur des vaisseaux => soit arrêter les hémorragies et empêcher les thromboses).

On distingue classiquement trois temps :

- **l'hémostase primaire** ferme la brèche vasculaire par un "thrombus blanc" (clou plaquettaire),
- **la coagulation** consolide ce premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des globules rouges (thrombus rouge),
- **la fibrinolyse**, permet la destruction des caillots, ou la limitation de leur extension.

Ces trois temps sont initiés simultanément dès qu'est enclenché le processus d'hémostase et sont interdépendants

I- hémostase primaire :

Immédiatement déclenchée dès qu'il y a une brèche vasculaire, elle aboutit à l'arrêt du saignement essentiellement pour les petits vaisseaux.

❖ Les acteurs en présence

- 1) *Deux éléments cellulaires* : cellules endothéliales (paroi vasculaire) et plaquette.
- 2) *Deux éléments plasmatiques* : facteur von Willebrand (prot- formée au niveau du foie) et fibrinogène (dimère formé par l'hépatocyte) => les deux ont 2 rôles : interviennent dans l'hémostase primaire et la coagulation
 - **Endothélium et paroi vasculaire :**
 - *intima* : couche continue mono-cellulaire de cellules endothéliales séparée du sous endothélium par la membrane basale. Le sous-endothélium comporte des micro-fibrilles constituées d'un type de collagène très thrombogène. Les cellules endothéliales ont des fonctions multiples
 - Fonctions anti-thrombotiques*: préviennent l'activation de la coagulation et des plaquettes, en s'interposant de façon ininterrompue entre le sang et les substances sous endothéliales procoagulantes,
 - Fonctions prothrombotiques*: après activation, elles deviennent le support des réactions de la cascade de la coagulation. (FT=>initiation)
 - *enfin ces ç synthétisent : F. Willebrand, prostacycline (PGI₂), (FT), thrombomoduline, activateur du plasminogène (tPA) et son inhibiteur (PAI).
 - *L'intima est séparée de la média par la limitante élastique interne.
 - *média* : Elle est riche en fibres musculaires qui permettent la vasoconstriction et en fibroblastes. Elle est séparée de l'adventice par la limitante élastique externe.
 - *adventice* : fait le lien avec les autres structures tissulaires péri-vasculaires. C'est là que circulent les vasa vasorum et se terminent les ramifications nerveuses.
 - **plaquettes :**
 - portent les antigènes érythrocytaires ABO, les antigènes HLA et des antigènes spécifiques: les antigènes HPA, permettant de décrire cinq groupes plaquettaire : les groupes HPA-1 à HPA-5. Des anticorps peuvent donc apparaître après transfusion de plaquettes rendant les transfusions plaquettaire suivantes inefficaces.
 - **Facteur von Willebrand (vWF) :**
 - polymère hétérogène, synthétisé par les cellules endothéliales+ mégacaryocytes ; présent dans le plasma, les plaquettes et le sous-endothélium.

Dans le plasma, il circule lié au facteur anti-hémophilique A (facteur VIII ou FVIII) qu'il protège contre la protéolyse.

- **Fibrinogène** : Un dimère. Chaque monomère est composé de trois chaînes

1) Le déroulement de l'hémostase primaire

Dès qu'une brèche vasculaire se constitue, le processus d'hémostase primaire se met en jeu.

a. Le temps vasculaire

La 1ère réaction=> une vasoconstriction localisée qui peut soit arrêter les hémorragies, soit au moins réduire le flux sanguin et modifier les conditions hémodynamiques, favorisant le processus d'hémostase.

b. temps plaquettaire

- *L'adhésion plaquettaire+activation* :

dès leur sortie du Vx adhèrent à la structure sous endothéliale mise à nu par la brèche vasculaire. Elle se produit en grande partie par la GP Ib qui se colle au sous endothélium grâce au facteur Willebrand qui sert de ciment. Une première couche monocellulaire de plaquettes se constitue ainsi.

-*activation /sécrétion* :

les plaquettes adhérentes s'activent et recrutent d'autres plaquettes circulantes.

-*L'agrégation plaquettaire* :

Sur la première couche de plaquettes se fixent d'autres plaquettes. Les GP IIb/IIIa de surface, lors de l'activation plaquettaire subissent une modification conformationnelle qui leur permet de fixer le fibrinogène en présence de calcium. L'agrégation se fait ainsi grâce au fibrinogène qui établit des ponts entre les plaquettes, créant un premier thrombus fragile (agrégation réversible). Grâce à la libération des enzymes et du contenu granulaire des plaquettes, le caillot se solidifie (agrégation irréversible), constituant le thrombus blanc ou clou plaquettaire.

II. Coagulation :

Cascade de réaction enzymatique =>consolidation du thrombus (fibrinogène=>fibrine)et elle met en jeu des cellules et des facteurs

1) Éléments cellulaires :

- a- *plaquette* : offrent une surface de catalyse de ces réactions enzymatiques
- b- *cellules endothéliales +monocyte* : après stimulation par certaines cytokines ou des facteurs physico-chimiques, peuvent exprimer à leur surface le facteur tissulaire (FT) qui est l'élément déclenchant majeur de la coagulation.
- c- *fibroblaste* : capables d'exprimer le FT et de synthétiser tout comme les cellules musculaires de nombreux facteurs impliqués dans la coagulation.

2) Éléments non cellulaires : facteurs de coagulation et leurs inhibiteurs :

Les facteurs de coagulation sont des pro-enzymes synthétisés par l'hépatocyte=>désordres hémorragiques chez les cirrhotiques/insuffisant hépatique mais le FVIII fait exception (NI ou augmenté)

Il existe toujours au moins deux formes pour ces facteurs: non active et une forme active

Chaque facteur à l'état activé pourra soit activer un autre facteur soit modifier certaines protéines impliquées ou non dans la coagulation.

Certains de ces facteurs portent des résidus **gamma-carboxylés** qui leur permettent de fixer le calcium et de se lier aux membranes phospholipidiques.

ils'agit des facteurs **II, VII, X, IX=PPSB** et de certains inhibiteurs: **protéine C/S**.

La Gamma-carboxylation nécessite la présence de **vitamine K** d'où le nom de facteur vitamine K dépendant. Ainsi, un patient porteur d'une avitaminose K ou recevant un trt antivitamine K aura une diminution de synthèse de ces facteurs. A la place circulent des substances appelées **PIVKA** (Protein Induced by Vitamine K Absence ou Antagoniste): PIVKA VII: ce sont des précurseurs non carboxylés donc inactifs car leur liaison aux phospholipides en présence de calcium est impossible.

A côté de ces facteurs existent dans le plasma des systèmes inhibiteurs : système des anti-thrombines, système protéine C-protéine S, inhibiteur de la voie extrinsèque (**TFPI** pour Tissue Factor Pathway inhibitor). Ils sont prédominants dans le plasma et régulent en permanence le processus d'hémostase.

❖ Déroulement de la coagulation

A. In vitro :

La coagulation est une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la formation de fibrine. L'enzyme central permettant de transformer le fibrinogène en fibrine est la **thrombine**.

La conception classique du phénomène de coagulation comportait deux voies d'activation :

- La voie intrinsèque dans laquelle tous les éléments nécessaires de la coagulation sont présents dans le plasma sans apport extérieur. Cette voie s'active en présence de surface mouillable comme le verre.
- La voie extrinsèque qui pour être activée nécessite la présence d'éléments tissulaires appelés thromboplastine tissulaire.

Le déroulement de la coagulation in vivo ne respecte pas cette distinction voie intrinsèque – voie extrinsèque. Cette conception duelle de la coagulation correspond en fait aux processus de coagulation in vitro et sera très utile pour l'exploration de la coagulation car la voie intrinsèque (ou endogène) et la voie extrinsèque (ou exogène) sont respectivement explorées par le temps de céphaline activée et le temps de Quick. C'est donc sur ce schéma que pourra se faire le raisonnement diagnostique d'interprétation des tests de coagulation bien que ce schéma ne correspond pas à la réalité in vivo.

B. In Vivo : actuelle 3 étapes

1) *Le déclenchement de la coagulation :*

l'élément déclenchant de la coagulation, in vivo est le FT qui est un récepteur membranaire de très haute affinité pour le F VII) normalement absent de la circulation sanguine mais est exprimé au niveau des cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire et des fibroblastes et sera donc exposé lors d'une brèche vasculaire. Il peut aussi être exprimé par les monocytes ou les cellules endothéliales dans certaines circonstances pathologique

Lorsque le FT se trouve en contact du sang, il active le FVII circulant en formant un complexe: [FVII activé - FT]. Il existe une toute petite quantité préalable de FVII déjà activé dans le plasma mais qui en l'absence de FT a très peu d'activité enzymatique. A partir de la formation du complexe, deux voies d'activation sont possibles :

- Quand le FT est en excès, le complexe [FVII activé - FT] active directement le facteur X (FX). Cette voie peut être rapidement inhibée par l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire, le TFPI.
- Quand le FT est en faible quantité (ou l'inhibition par le TFPI prépondérante), le complexe [FVII activé - FT] active alors le facteur IX (FIX). L'accumulation de FIX activé en présence de son cofacteur le facteur VIII (FVIII) activé, de phospholipides et d'ions calcium (complexe antihémophilique) permettra secondairement l'activation du FX en FX activé.

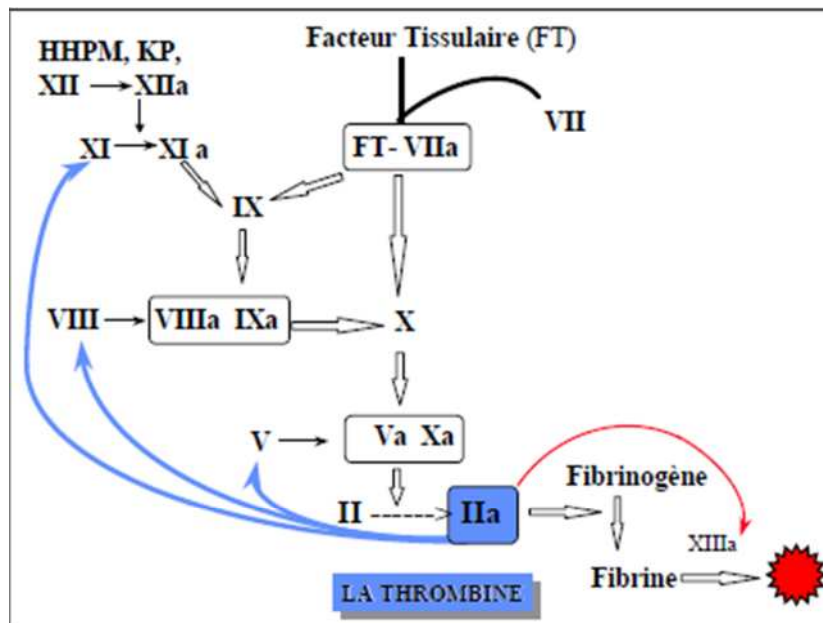
Le FIX ou facteur antihémophilique B et le FVIII ou facteur antihémophilique A sont deux facteurs extrêmement importants en pathologie.

2) *La thrombino-formation+ boucle d'amplification*

Quelle que soit la voie empruntée in vivo, le point central sera la génération de FXa. Le FXa en présence de facteur Va, de phospholipides des membranes cellulaires, et de calcium, s'appelle **le complexe prothrombinase** qui active la prothrombine (F.II) en thrombine (F.IIa).

La thrombine est une enzyme extrêmement puissante. Son principal substrat est le fibrinogène (=>monomère de fibrine=>dimères de fibrine)

boucles d'amplification : outre son action sur le fibrinogène, catalyse sa propre génération en favorisant la génération de FVIIIa, FVa (qui accélèrent le X par IXa et le II par le Xa respectivement) et FXIa (voir rôle du système contact) Elle active également le facteur XIII qui va jouer un rôle majeur dans la stabilisation du caillot et les plaquettes



3) La fibrinoformation :

Dès qu'apparaissent des traces de thrombine, le processus de coagulation s'amplifie jusqu'à la formation d'un réseau de fibrine qui emprisonne les globules rouges (thrombus rouge)

4) phase de contact :

est composé de 4 facteurs : le facteur XII (FXII), la prékallitréine (PK), le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) et le facteur XI (FXI). Le FXI n'est pas seulement activé par la thrombine (de façon rétroactive) mais peut l'être par le contact des protéines plasmatiques sus citées.

Un déficit même complet en l'un des 3 premiers facteurs entraîne des allongements très importants du TCA sans hémorragie. En revanche les déficits en FXI peuvent s'accompagner de Sd hémorragiques (génération de thrombine par rétro-activation)

❖ Régulation de la coagulation

Le système de la coagulation plasmatique a tendance à s'activer spontanément. Il est très important pour l'organisme que les enzymes formés lors de l'activation de la coagulation (thrombine, FX activé) ne circulent pas dans le plasma car ils risqueraient d'entraîner une activation diffuse de la coagulation et un processus pathologique grave. donc chq facteur a son inhibiteur => 3 systèmes :

1. L'antithrombine : (ATIII)

inhibe principalement le facteur IIa mais aussi le FXa, le FIXa et partiellement le FXIa. Son activité anticoagulante est augmentée de façon très importante par l'héparine (utilisé en thérapeutique). Les déficits en antithrombine sont des maladies sévères responsables de thromboses à répétition (thromboses veineuses, embolies pulmonaires). Il existe un autre inhibiteur probablement mineur : le second cofacteur de l'héparine.

2. le système Protéine C-Protéine S :

La protéine C (PC) circule sous forme inactive. Elle peut être activée par la thrombine en Protéine C activée (PCa) condition que la thrombine soit fixée sur un récepteur appelé la thrombomoduline. La PCa est un inhibiteur très puissant des facteurs Va et VIIIa. Son action est augmentée par une autre substance circulant dans le sang, la Protéine S (PS). Il est intéressant de noter que la PC et la PS sont des facteurs vitamine K dépendants. Les déficits en PC et PS exposent les sujets à un risque de thrombose. Dans les substrats de la PCa, le plus important paraît être le FVa. Certains individus présentent une anomalie du FV qui rend le FVa insensible à l'action neutralisante de la PCa : c'est résistance de la PCa (RPCA).

3. le TFPI (tissue factor pathway inhibitor):

Le TFPI est synthétisé principalement par les cellules endothéliales mais les plaquettes en séquestrent dans les granules.

c'est un inhibiteur plasmatique qui va se fixer au facteur Xa. Il n'y a pas d'inhibiteur du F. VIIa mais un inhibiteur appelé TFPI qui inhibe l'activation du F.X par le complexe [facteur VIIa – facteur tissulaire]. Ceci explique que, dans le plasma, circule un peu de F.VIIa (TFPI-Xa=faux complexe et neutralise FT-VIIa=>TFPI-Xa-FT-VII)

III La fibrinolyse :

Elle tend à empêcher l'installation mais surtout l'extension du caillot en détruisant les polymères de fibrine.

❖ Les acteurs de la fibrinolyse

1) Facteurs plasmatiques

La fibrinolyse fait intervenir une substance circulant sous forme inactive dans le plasma: le **plasminogène**, synthétisé par le foie. Sous l'influence d'activateurs, le plasminogène se transforme en **plasmine** qui est une enzyme protéolytique très puissante, capable de dégrader le caillot de fibrine mais aussi de détruire le fibrinogène, voire d'autres facteurs de coagulation.

L'activation du plasminogène en plasmine se fait grâce à des activateurs de deux types :

- a) la voie de l'**activateur tissulaire du plasminogène (t-PA)**. Cette substance est synthétisée de façon quasi exclusive par la cellule endothéliale qui la libère sur le site du caillot lors de tout phénomène d'agression.
- b) la voie de la **pro-urokinase-urokinase (U-PA)** La forme circulante est la pro-urokinase synthétisée par les cellules rénales et d'autres cellules parenchymateuses. La pro-urokinase s'active en urokinase essentiellement au contact du caillot de fibrine.

- Le système fibrinolytique est régulé par deux types d'inhibiteurs :

-inhibiteurs de la plasmine : **alpha 2 antiplasmine, alpha 2 macroglobuline**

-inhibiteurs des activateurs du plasminogène : le **PAI-1** est l'inhibiteur surtout du t-PA et le **PAI-2**, présent essentiellement chez la femme enceinte, est inhibiteur de l'urokinase.

2) les éléments cellulaires :

Il s'agit en particulier des **monocytes** et des **cellules endothéliales** qui d'une part synthétisent des facteurs activateurs (**t-PA**) ou inhibiteurs de la fibrinolyse (**PAI**) mais d'autre part, portent à la surface ou peuvent exprimer lorsqu'elles sont activées des récepteurs pour le plasminogène ou les activateurs du plasminogène, ou bien des inhibiteurs. Ainsi le processus de fibrinolyse sera beaucoup plus efficace lorsque des éléments cellulaires sont présents, et qu'ils permettent d'obtenir des concentrations d'activateur ou d'inhibiteur très importantes in situ.

❖ déroulement de la fibrinolyse

En l'absence de fibrine, le plasminogène circulant est inactif (proenzyme). Le **t-PA** circulant est lié à son inhibiteur (**PAI-1**) et la pro-urokinase circulante est également peu active. Dès que se forment des traces de fibrine, la cellule endothéliale libère du **t-PA** parfois en quantité très importante (phénomène favorisé par l'hypoxie, la stase, l'acidose ou certaines cytokines).

Le t-PA qui a une forte affinité pour la fibrine, active le plasminogène en plasmine (uniquement au niveau du caillot de fibrine, et non pas dans le courant plasmatique). De même la présence de fibrine favorise l'activation de la pro-urokinase en urokinase.

Par ailleurs, les monocytes, activés par différentes cytokines, (interleukine-1, TNF) expriment à leur surface différents récepteurs dont le récepteur à l'urokinase. En fixant l'urokinase, ils participeront à la destruction du caillot de fibrine.

Au niveau du caillot, la plasmine générée dégrade la fibrine en produisant des fragments très hétérogènes, appelés **PDF** (Produits de Dégradation de la Fibrine). Certains PDF sont spécifiques de la fibrine : ce sont les **D-Dimères**

Lorsque la plasmine est en excès, elle passe dans le courant plasmatique où elle est aussitôt neutralisée par les inhibiteurs de la plasmine : **alpha 2 antiplasmine, alpha 2 macroglobuline**. Ceci contribue à localiser le processus de fibrinolyse au niveau du caillot de fibrine.