

## **TROUBLES DE L'HEMOSTASE ET DE LA COAGULATION**

### **PLAN DU COURS :**

- I. Introduction.
- II. Situations physiologiques :
  - 1) Hémostase primaire
    - A. Vaisseaux
    - B. Plaquettes et formation du clou plaquettaire
    - C. Forces hémodynamiques
  - 2) Coagulation
  - 3) Fibrinolyse
- III. Participation de l'endothélium dans la modulation de l'hémostase
  - 1) Modulation de l'hémostase primaire
  - 2) Modulation de la coagulation
    - A. Effet pro-coagulant
    - B. Effet anticoagulant
  - 3) Modulation de la fibrinolyse
- IV. Situations pathologiques :
  - 1) Moyens diagnostiques
  - 2) Diagnostique étiologique
    - A. Pathologies hémorragiques acquise ou constitutionnelle de l'hémostase primaire
      - Thrombopathies
      - Maladie de Willebrand
      - Saignements secondaires à une anomalie vasculaire
    - B. Pathologies hémorragiques acquise ou constitutionnelle de la coagulation
      - Insuffisance hépato-cellulaire
      - Coagulation intraveineuse disséminée
      - Hémophilie acquise et congénitale

### **OBJECTIFS DU COURS :**

1. Reconnaître l'hémostase primaire et le rôle de l'endothélium dans l'hémostase et la coagulation.
2. Comprendre les mécanismes physiopathologiques des troubles de l'hémostase et de la coagulation.

### **I. INTRODUCTION**

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes assurant la prévention des saignements spontanés, l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi vasculaire, la formation locale d'un caillot et sa dissolution.

### **II. SITUATIONS PHYSIOLOGIQUES**

#### **1) Hémostase primaire**

Son but est l'obturation de la brèche vasculaire par la formation du clou plaquettaire, dont les acteurs principaux sont les vaisseaux, les plaquettes et les forces hémodynamiques.

##### **A. Vaisseaux**

Les vaisseaux sont constitués par (Figure 1) :

- un endothélium : constitué d'une fine couche monocellulaire qui tapisse la face interne de tous les vaisseaux de l'organisme. C'est un des organes les plus volumineux de l'organisme ( $10^{13}$  cellules endothéliales, 1,5 kg, surface de 4000 à 7000 m<sup>2</sup>). Il a de multiples propriétés et joue un rôle capital dans le maintien de l'hémostase et de la fluidité du sang. En outre il n'est pas thrombogène.
- un sous-endothélium qui est très thrombogène car c'est le lieu d'adhésion des plaquettes et d'activation de la coagulation
- une média (composée de cellules musculaires lisses) et une adventice.

En cas de lésion vasculaire, le premier temps est appelé temps vasculaire, c'est une vasoconstriction réflexe qui permet une diminution focale du débit sanguin et une concentration de la réparation.

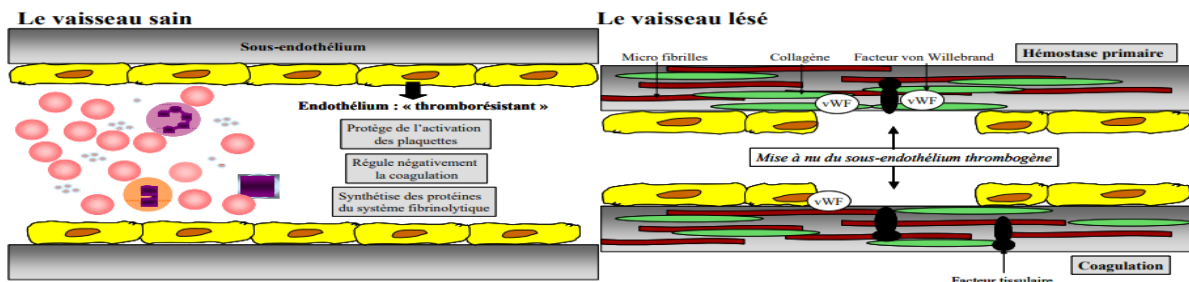


Figure 1 : Vaisseau sanguin sain et vaisseau sanguin lésé

## B. Plaquettes et formation du clou plaquettaire

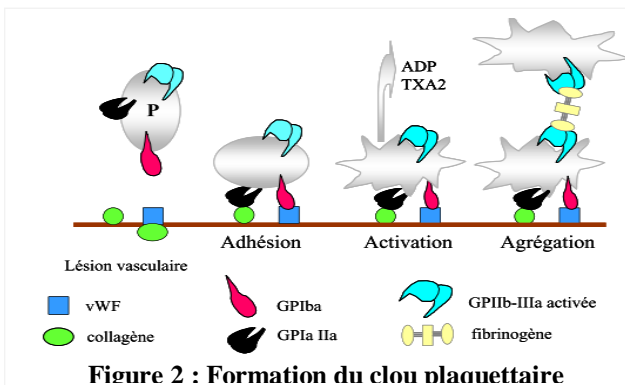


Figure 2 : Formation du clou plaquettaire

Ensuite, vient le temps plaquettaire avec adhésion des plaquettes à la paroi. Les plaquettes adhèrent aux structures sous-endothéliales (endothélium détruit) via plusieurs glycoprotéines membranaires : la glycoprotéine GPIa et VI se lie au collagène, cette interaction est rapide et facilement réversible, et la glycoprotéine GPIb-IX-V qui se lie au facteur Von Willebrand (sécrété par les cellules endothéliales avoisinantes). Au niveau des veines, où les forces de cisaillement sont beaucoup plus faibles, les plaquettes adhèrent assez facilement à l'endothélium par le biais de l'intégrine  $\alpha 2$ .

L'adhésion plaquettaire provoque leur activation, entraînant un changement de forme et une expulsion du contenu des granules (release), notamment de l'ADP, ce qui va provoquer l'activation d'autres plaquettes et leur agrégation entre elle.

Le collagène et la thrombine sont par ailleurs capables d'activer la voie de l'acide arachidonique, conduisant à la production de thromboxane A2 (TXA2) qui a une action vasoconstrictrice et induit elle-même l'agrégation et la sécrétion plaquettaires. Ces réactions aboutissent à la formation du clou plaquettaire permettant l'arrêt transitoire du saignement (Figure 2).

## C. Forces hémodynamiques

L'adhésion des plaquettes à la paroi vasculaire dépend de la vitesse d'écoulement du sang à l'intérieur des vaisseaux et de la concentration des globules rouges et des plaquettes. Il est important de noter que la coagulation fonctionne mal si l'hématocrite est abaissé (< 30 %).

## 2) Coagulation

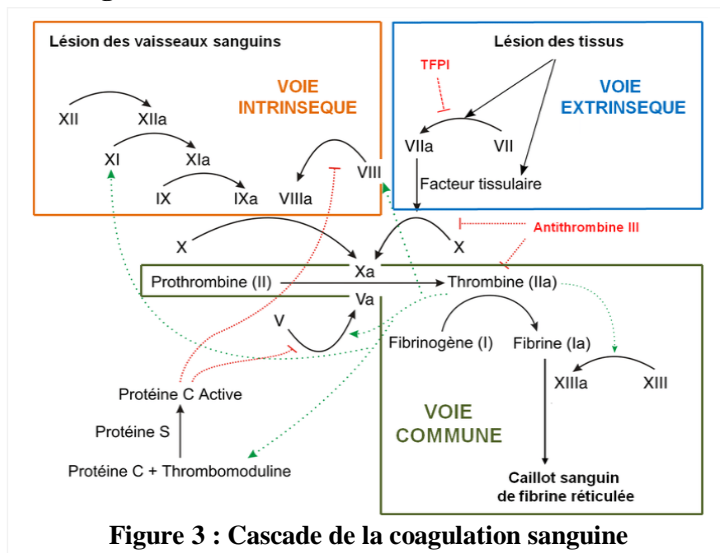


Figure 3 : Cascade de la coagulation sanguine

Les facteurs de la coagulation, synthétisés pour la plupart par le foie, sont divisés en précurseurs (pro-enzymes ou zymogènes) de sérine-protéases (facteurs II, VII, IX, X, XI, XII), en cofacteurs (facteurs V, VIII) et en substrat (fibrinogène).

Pour que l'activation enzymatique des facteurs de la coagulation se déroule normalement, la présence de phospholipides et de calcium est nécessaire. Les phospholipides proviennent de deux sources principales, les plaquettes et les tissus (thromboplastine tissulaire).

Le calcium est nécessaire à la plupart des étapes d'activation enzymatique de la coagulation.

La coagulation ou hémostase secondaire aboutit, après une cascade de réactions enzymatiques, au renforcement du thrombus formé lors de l'hémostase primaire par la conversion du fibrinogène soluble en fibrine insoluble. L'apparition de filaments de fibrine à la surface des plaquettes vient consolider le clou hémostatique et aboutit à la formation du caillot (Figure 2).

La coagulation est schématiquement divisée en 3 étapes (Figure 3) :

- a) **La génération de la prothrombinase** par l'aboutissement de 2 voies différentes de la coagulation appelées extrinsèque (initiée par une lésion endothéliale c'est à dire tissulaire) et intrinsèque (purement sérique). Ces deux voies se rejoignent en une voie commune où le facteur Xa adsorbé à la surface des phospholipides d'origine plaquettaire ou tissulaire s'associe au facteur Va (V activé par la thrombine) pour constituer un complexe appelé prothrombinase.
- b) **La formation de thrombine** ou la transformation de la prothrombine en thrombine par le complexe prothrombinase.
- c) **La formation de fibrine** ou la transformation du fibrinogène en fibrine.

### 3) Fibrinolyse

C'est le processus enzymatique de dissolution de la fibrine. Quand un processus de coagulation intervient, il y a le déclenchement simultané de la fibrinolyse qui permettra de limiter l'extension d'un caillot et de le lyser par la plasmine. Le système fibrinolytique (comme celui de la coagulation) consiste en une cascade d'enzymes. Il y a des activateurs et des inhibiteurs qui régulent la formation de plasmine.

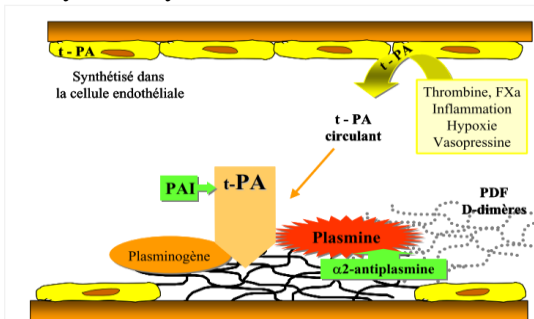


Figure 4 : Régulation de la dégradation de la fibrine et/ ou du fibrinogène

Les principaux activateurs du plasminogène sont l'activateur tissulaire du plasminogène : le tissu plasminogène activator (t-PA) et l'urokinase plasminogène activator (u-PA). La cible des activateurs est le plasminogène, synthétisé par le foie et circule à une concentration assez importante (Figure 4). L'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA), principal activateur intravasculaire de la fibrinolyse, est une protéase libérée par les cellules endothéliales qui transforme le plasminogène en plasmine. L'activateur du plasminogène u-PA est localisé exclusivement au niveau rénal. Il est exprimé uniquement lors des processus de réparation tissulaire et d'angiogénèse, suggérant qu'il a un rôle important dans la migration cellulaire et le remodelage tissulaire.

L'action des activateurs va entraîner la transformation du plasminogène (pro-enzyme) en un enzyme actif « la plasmine » pour dégrader la fibrine. On ne trouve normalement pas de plasmine libre dans le plasma, car si elle est générée, elle est immédiatement complexée avec son inhibiteur, l' $\alpha_2$ -antiplasmine (Figure 4). La plasmine est un enzyme très puissant qui attaque la fibrine et le fibrinogène aussi, certains facteurs de coagulation et d'autres protéines.

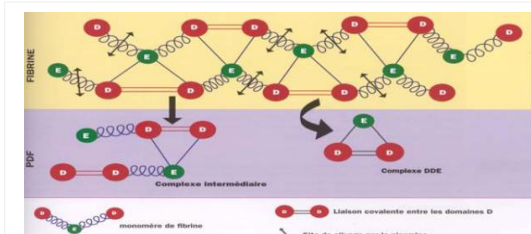


Figure 5 : La dégradation de la fibrine (PDF et D-Dimères)

La plasmine dégrade la fibrine et libère dans la circulation d'abord des produits de dégradation volumineux, appelés les produits de dégradations de la fibrine (PDF) puis par dégradation successive des produits plus petits comme les fragments DD (appelés D-Dimères) et E (Figure 5).

## III. PARTICIPATION DE L'ENDOTHELIUM DANS LA MODULATION DE L'HEMOSTASE

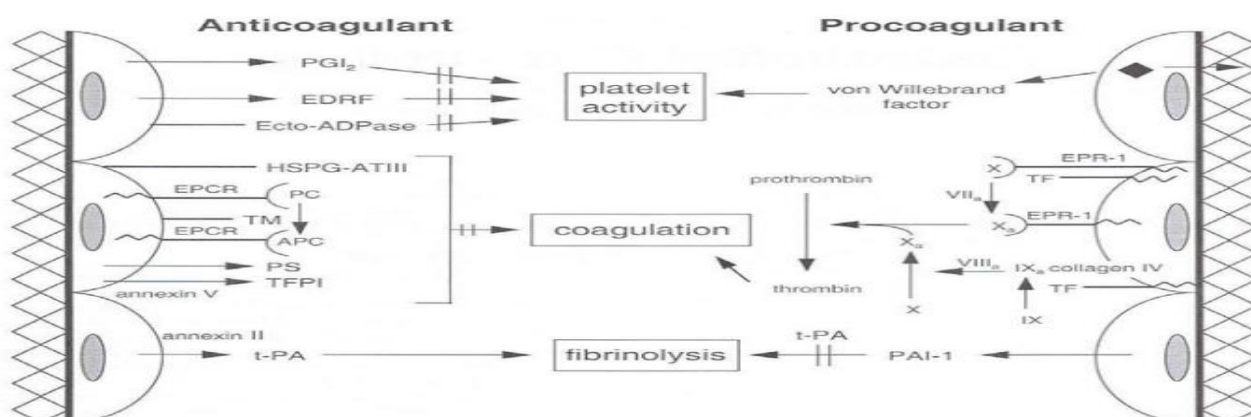
Les cellules endothéliales ont un rôle à chaque étape de l'hémostase puisqu'elles participent à l'activation plaquettaire et qu'elles produisent des facteurs de la cascade de la coagulation et du système fibrinolytique.

### 1) Modulation de l'hémostase primaire

L'endothélium, localement détruit, laisse apparaître une matrice riche en collagène et sur laquelle se dépose le facteur Von Willebrand, sécrété par les cellules endothéliales avoisinantes (Figure 6). Les cellules endothéliales limitent aussi l'hémostase primaire en libérant des substances vasodilatatrices (Prostacycline) et des ADPases, qui catabolisent l'ADP, un des plus puissants activateurs plaquettaires. Le déficit en molécules impliquées dans l'adhésion plaquettaire s'accompagne de saignements spontanés ou déclenchés par des traumatismes minimes (Figure 6).

## 2) Modulation de la coagulation

Une des fonctions essentielles de l'endothélium est de maintenir la fluidité sanguine et donc de présenter une surface qui inhibe l'activation plaquettaire et l'activation de la cascade de la coagulation. Il y a donc en permanence dans l'organisme un équilibre subtil entre un état anticoagulant et un phénotype procoagulant (Figure 6).



**Figure 62 : Participation des cellules endothéliales vasculaires dans la coagulation vasculaire**

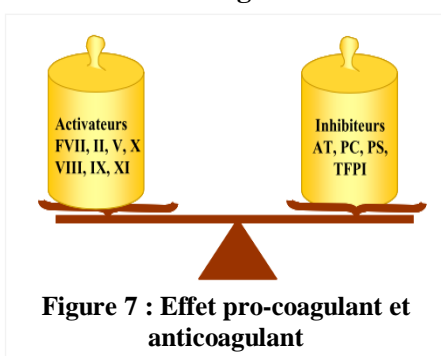
APC (Activated Protein C) ; AT-III (Antithrombin III) ; EDRF (Endothelium Derived-Relaxing Factor) appelé également NO (Monoxyde d'azote) ; EPCR (Endothelial Protein C Receptor) ; EPR-1 (Effector Cell Protease Receptor-1) ; HSPG (Heparin-Sulfate Proteoglycans) ; PAI-1 (Plaminogen activator inhibitor 1) ; PC (Protein C) ; PGI<sub>2</sub> (Prostacyclin) ; PS (Protein S) ; TFPI (Tissue Factor Pathway inhibitor) ; TM (Thrombomodulin) ; t-PA (tissue Plasminogen Activator).

### A. Effet pro-coagulant

Les réactions de la cascade de la coagulation ont lieu, non pas en phase liquide dans le plasma, mais en phase solide, généralement sur les membranes cellulaires et les caillots en formation. Par sa position et sa superficie, l'endothélium est la principale surface sur laquelle a lieu la réaction de coagulation qu'elle implique la voie extrinsèque comme précédemment décrit ou la voie intrinsèque. Le contact entre les facteurs de la coagulation et la paroi vasculaire a lieu soit de façon non-spécifique via des interactions physiques soit par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques que synthétisent les cellules endothéliales.

L'étape majeure d'acquisition pour l'endothélium d'un phénotype procoagulant passe par l'expression du facteur tissulaire (FT). In vitro, le FT est induit par de nombreux médiateurs comme la thrombine, l'endotoxine, les cytokines, les forces de cisaillements, l'hypoxie ou encore les lipides oxydés. Son activité procoagulante est accélérée en présence de phospholipides anioniques qui sont exposés par les cellules apoptotiques. En présence d'agonistes, les taux de protéines et d'ARN messager du FT diminuent rapidement, probablement pour éviter une extension trop rapide de la fibrine. Une fois exprimée, le FT rencontre le facteur VII et l'active. Le complexe FT-VIIa active à son tour les facteurs IX et X (Figure 6). La thrombine se lie en surface à un récepteur appelé « Protease-Activating Receptor (PAR) » et exerce son action sur la formation de fibrine et l'amplification de la cascade de la coagulation. Le récepteur de son côté (PAR-1) induit l'expression de différents gènes (FT, NO, PAF « Platlet-Activating Factor », ET « Endothéline »), illustrant l'intrication complexe des différentes fonctions des cellules endothéliales, à savoir coagulation, régulation du tonus vasomoteur et adhésion leucocytaire.

### B. Effet anticoagulant



Dans le plasma, il existe plusieurs systèmes anticoagulants physiologiques dont le rôle est de maintenir l'équilibre hémostatique en contenant les réactions procoagulantes à un niveau basal (Figure 6, 7). Les principaux inhibiteurs sont l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire : TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor), l'antithrombine III (AT-III), ainsi que les protéines C et S (PC et PS) (Figure 7). Un déficit en inhibiteurs aboutit à l'hypercoagulabilité. L'activité anticoagulante de l'endothélium veille à limiter la génération permanente de thrombine. Pour se faire, plusieurs acteurs interviennent :

- Le glycocalyx par ces deux glycosaminoglycans, l'Héparin-Sulfate Proteoglycanes (HSPG) et le dermatane sulfate, potentialisent l'activité de deux enzymes anticoagulantes, respectivement l'antithrombin III et le cofacteur II de l'héparine (Figure 6).
- L'endothélium produit du Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) qui se lie au facteur Xa (activé) et inhibe ensuite le complexe FT-VII a, inhibant ainsi principalement l'activation de la voie extrinsèque de la coagulation (Figure 6).

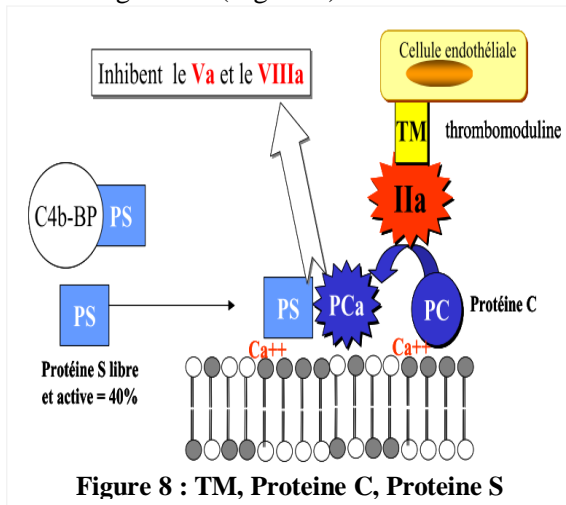


Figure 8 : TM, Protéine C, Protéine S

- Les cellules endothéliales produisent la thrombomoduline (TM) qui est soit fixée à la membrane soit libérée dans la circulation. La TM à la surface de la cellule endothéliale une fois activée par la thrombine, fixe la protéine C en surface et augmente son activité anticoagulante en association avec son cofacteur spécifique, la protéine S. La TM possède une activité anticoagulante propre puisque elle est capable de se lier et d'inhiber directement le facteur X activé (Figures 6, 8).
- la protéine C (PC) est un zymogène dont la synthèse est vitamine K dépendante. La protéine C activée (PCa) inhibe les facteurs Va et VIIIa, et exprime sa fonction anticoagulante en présence d'un cofacteur vitamine K dépendant appelé protéine S (PS) (Figure 8).

- l'endothélium accélère l'activation de la protéine C en exprimant à sa surface un autre récepteur « endothelial protein C receptor (EPCR) ».
- l'antithrombine III (AT-III) inhibe surtout la thrombine et le facteur Xa, mais peut aussi inhiber un peu moins efficacement les facteurs XI, IX et VII activés. Son action est considérablement accélérée par l'héparine (environ 1000 fois).

### 3) Modulation de la fibrinolyse

L'endothélium a aussi physiologiquement des effets profibrinolytiques. L'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA), principal activateur intravasculaire de la fibrinolyse, est une protéase libérée par les cellules endothéliales qui transforme le plasminogène en plasmine. Cette réaction a lieu sur une surface soit cellulaire (endothélium) soit sur un caillot plaquettaire. La plasmine dégrade la fibrine et libère dans la circulation les produits de dégradations de la fibrine (PDF) ou D-dimères. Le système fibrinolytique est contrôlé par deux inhibiteurs : l' $\alpha_2$  antiplasmine (inhibiteur de la plasmine) et l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène « Plasminogen Activator Inhibitor ou PAI » de type (PAI-1, PAI-2 et PAI-3).

Le PAI-1, produit par le foie et l'endothélium activé, est le plus étudié des inhibiteurs, il semble avoir l'affinité la plus importante pour l'activateur du plasminogène. Le PAI-2 ne se trouve en général pas dans le plasma, sauf en cas de grossesse où il représente l'inhibiteur principal de la fibrinolyse.

## IV. SITUATIONS PATHOLOGIQUES

### 1) Moyens diagnostiques

- **Interrogatoire et examen clinique** : ils aident à distinguer une pathologie de l'hémostase primaire d'une maladie de la coagulation, et orientent vers une étiologie constitutionnelle ou acquise
  - **Atteinte de l'hémostase primaire**
    - Hémorragies cutanéomuqueuses
    - Purpura pétéchial et/ou ecchymotique
    - Saignements spontanés et/ou provoqués
    - Saignement précoce
  - **Atteinte de la coagulation**
    - Hémorragies touchant les tissus profonds (articulation, muscle, etc.)
    - Saignement provoqué par un traumatisme minime Saignement retardé
- **FNS**
- **Temps de céphaline + activateur (TCA)** [appelé aussi TCK si l'activateur de contact utilisé est le kaolin]
- **Temps de Quick (TQ) improprement dénommé TP (taux de prothrombine)**



## 2) Diagnostic étiologique

### A. Pathologie hémorragique acquise ou constitutionnelle de l'hémostase primaire

#### ➤ Thrombopathies

- **Thrombopathies acquises** : thrombopathies médicamenteuses (très fréquentes) et certaines hémopathies (gammopathies monoclonales, syndromes myéloprolifératifs, myélodysplasies).
- **Thrombopathies constitutionnelles** : Beaucoup plus rares et leur diagnostic est porté grâce à l'étude fonctionnelle des plaquettes : thrombopathies affectant l'adhésion (syndrome de Bernard-Soulier), la sécrétion (déficit enzymatique ou en granules plaquettaires) ou l'agrégation plaquettaire (thrombasthénie de Glanzmann).

#### ➤ Maladie de Willebrand

Elle est habituellement recherchée devant des saignements cutanéomuqueux inexplicables, ou dans le cadre d'une enquête familiale. C'est la plus fréquente des maladies constitutionnelles de l'hémostase. Elle est due à un déficit quantitatif ou qualitatif du vWF.

##### Diagnostic d'orientation :

- syndrome hémorragique cutanéomuqueux avec :
- nombre de plaquettes normal ;
- allongement du TCA, variable selon le taux de FVIII plus ou moins abaissé ;
- le TS et le temps d'occlusion plaquettaire, s'ils sont pratiqués, sont allongés mais peuvent aussi être normaux.

##### Confirmation du diagnostic :

- dosage de l'activité cofacteur du vWF (vWF:RCO) ;
- taux antigénique (vWF:Ag) ;
- dosage du FVIII (VIII:C).

#### ➤ Saignements secondaires à une anomalie vasculaire

**Cliniquement** : hémorragies cutanéomuqueuses associées à une numération des plaquettes et à des tests fonctionnels plaquettaires normaux.

Le TS, s'il est pratiqué, est classiquement non allongé.

##### Les anomalies vasculaires peuvent être :

- **secondaires, avec un purpura souvent infiltré, contrairement au purpura thrombopénique.**
- **primitives, dues à :**
  - une maladie de Rendu-Osler ou télangiectasie hémorragique héréditaire, de transmission autosomale dominante. Épistaxis, hémorragies digestives et télangiectasies au niveau des doigts, du nez, des lèvres et de la bouche ;
  - un syndrome d'Ehler-Danlos, affection génétique rarissime du tissu élastique.

### B. Pathologie hémorragique acquise ou constitutionnelle de la coagulation

#### ➤ Insuffisance hépato-cellulaire

Elle entraîne une coagulopathie dont les signes dépendent de la gravité de l'atteinte hépatique quelle qu'en soit l'origine (hépatite, cirrhose éthylique...), et qui résulte d'un déficit de synthèse des protéines de la coagulation (activateurs et inhibiteurs) ainsi que d'une clairance diminuée pour certains d'entre eux.

##### Elle entraîne des anomalies variables avec, selon les cas :

- un allongement du TQ : par diminution du taux de FVII ; FII et du FX ; FV, du fibrinogène.
- un allongement du TCA, avec un taux de FVIII normal, voire élevé dans les cas sévères ;
- un raccourcissement du temps de lyse des euglobulines (ou test de Von Kaulla) traduisant une hyperfibrinolyse ;
- une thrombopénie le plus souvent modérée, majorée par un hypersplénisme en cas d'hypertension portale.

#### ➤ Coagulations intravasculaires disséminées (CIVD)

Elle est le plus souvent liée à une expression en excès de FT :

- par les monocytes (infection) ;
- par les cellules endothéliales lésées (choc, polytraumatisme, infection, accidents transfusionnels via les complexes antigènes-anticorps) ;

- par les lésions d'organes riches en FT (placenta, prostate, poumon...);
- par les cellules tumorales (poumon, pancréas, prostate, cellules leucémiques).

Cette surexpression de FT se traduit par une génération incontrôlée de thrombine qui entraîne une consommation des facteurs de coagulation, avec une réaction fibrinolytique variable (génération de plasmine).

D'autres causes sont exceptionnelles : embolie graisseuse, morsure de serpent venimeux, déficit homozygote protéine C (PC) ou S (PS).

**Les signes cliniques sont essentiellement hémorragiques et le tableau biologique typique associe :**

- une hypofibrinogénémie sévère (< 1 g/l) ;
- une numération plaquettaire normale ;
- le taux de D-dimères, qui est de peu d'appoint car ces produits sont élevés dans les pathologies où se rencontrent les hyperfibrinolytes ;
- un temps de lyse des euglobulines très court (< 30 minutes)

#### ➤ **Hypovitaminose K**

Une carence en **vitamine K** entraîne une synthèse de protéines vitamine K-dépendantes (**FII, FVII, FIX, FX, PC, PS**) non fonctionnelles. Bien qu'elle affecte les activateurs et les inhibiteurs de la coagulation, elle se traduit essentiellement par des saignements.

**Les signes cliniques sont**

- TQ et TCA sont allongés, avec une diminution du taux des FII, FVII et FX, mais avec un FV et un fibrinogène normaux.
- Le FIX est lui aussi abaissé, mais cette donnée est inutile au diagnostic.
- La numération plaquettaire est normale.

#### ➤ **Hémophilie acquise et congénitale**

Les anticorps interférant avec la coagulation s'accompagnent soit d'un risque thrombotique (voir plus bas), soit d'un risque hémorragique. Ils sont dirigés spécifiquement contre un facteur de la coagulation. Le FVIII est la protéine de coagulation la plus fréquemment inhibée par un autoanticorps ; le malade présente alors une hémophilie acquise.

- Il est évoqué devant des saignements inexplicables : hématomes, ecchymoses, plus rarement hémorragie digestive ou rétro-péritonéale, hématurie chez un patient n'ayant pas d'antécédent hémorragique significatif.
- Le TCA est constamment allongé (Apport de plasma témoin normal ne le corrige pas = acquise – et le corrige = congénitale)
- Le taux de FVIII est diminué
- Les autres paramètres de l'hémostase sont classiquement normaux.
- NB : Acquise = un anticorps anti-FVIII dans le plasma du malade.