

**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** qui dure de 3 à 5 minutes, ferme la brèche vasculaire par un "thrombus blanc" (clou plaquettaire).
- **l'hémostase secondaire ou coagulation** qui dure 5 à 10 minutes, consolide ce premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des globules rouges (thrombus rouge).
- **la post coagulation ou fibrinolyse**, qui dure 48 à 72 heures permet la destruction du caillot, et la limitation de son extension.

**Ces trois temps sont initiés simultanément et sont interdépendants .**

### **HEMOSTASE PRIMAIRE**

#### **I- Définition :**

-c'est l'ensemble des interactions complexes entre la paroi vasculaire ,les plaquettes et les protéines adhésives aboutissant à la formation d'un agrégat plaquettaire « thrombus blanc », qui permet à lui seul l'arrêt des saignements dans les capillaires les plus fins.

-L'hémostase primaire se déroule en deux temps: **temps vasculaire** et **temps plaquettaire**

#### **II-Les facteurs de l'hémostase primaire:**

**1- Deux éléments cellulaires** : cellules endothéliales (paroi vasculaire) et plaquette.

**2- Deux éléments plasmatiques** : facteur von Willebrand (endothéliales+ mégacaryocytes) et fibrinogène (dimère formé par l'hépatocyte) =>les deux interviennent dans l'hémostase primaire et la coagulation

**a /La paroi vasculaire** : constituée de 3 couches :

-**l'intima** : couche continue mono-cellulaire de cellules endothéliales séparée du sous endothélium par la membrane basale. ces cellules synthétisent : F. Willebrand, prostacycline (PGI<sub>2</sub>), (FT), thrombomoduline, activateur du plasminogène (tPA) et son inhibiteur (PAI).

Le so us-endothélium comporte des micro-fibrilles constituées d'un type de collagène très thrombogène.

-**La média** : Elle est riche en fibroblastes et en fibres musculaires qui permettent la vasoconstriction.

-**L' adventice** : fait le lien avec les autres structures tissulaires péri-vasculaires.

**b/plaquettes**:Synthétisées par les **mégacaryocyte** au niveau de la MO,leur taux normal:150- 400 G/L

#### **Structure des plaquettes:**

-La membrane des plaquettes est constituée de phospholipides cholestérol, glycoprotéine (GP: Ia-IIa, Ib-IX, Iib-IIIa) et des récepteurs (ADP, adren, thrombine)

-le cytoplasme : **granules denses** riche en : ca<sup>+</sup>,ATP,ADP et en serotonine et **des granules alpha** contenant du (fibrinogène, fact V, FVW, thromboglobuline,Fibronectine,...)

#### **c/ facteur von Willebrand (vWF) :**

-polymère hétérogène, synthétisé par les cellules endothéliales et mégacaryocytaires .

-présent dans le plasma, les plaquettes et le sous-endothélium .

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

**d/ Fibrinogène :** Un dimère, dont chaque monomère est composé de trois chaînes peptidiques homologues, dites alpha, bêta et gamma, liées entre elles par des ponts disulfure

### III- 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 1<sup>ère</sup> réaction est une vasoconstriction localisée qui peut soit arrêter les hémorragies dans les petites capillaires, soit au moins réduire le flux sanguin et modifier les conditions hémodynamiques, favorisant ainsi le processus d'hémostase.

#### **B. Le temps plaquettaire :**

**1- L'adhésion plaquettaire :** dès leur sortie du vaisseau, elles adhèrent aux structures sous endothéliales mises à nu par la brèche vasculaire par le biais la GP **Ib-IX** qui se colle au sous endothélium grâce au facteur Willebrand qui sert de ciment et ainsi une première couche monocellulaire de plaquettes se constitue.

#### **2- activation /sécrétion :**

- Changement de la forme discoïde (devient sphérique)
- Emission de pseudopodes
- Contraction des microtubules
- Centralisation des granules
- Expulsion de leur contenu (ADP, adren, serotonine, ca<sup>+</sup>), c'est le **phénomène de release**

#### **3- L'agrégation plaquettaire :**

- Sur la première couche de plaquettes se fixent d'autres plaquettes par l'intermédiaire de La GP **Ib-IIIa** de surface.
- lors de leur activation les plaquettaire subissent une modification morphologique 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). Et 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.

## HEMOSTASE SECONDAIRE OU COAGULATION

**I- Définition :** Cascade de réaction enzymatique permettant la consolidation du thrombus plaquettaire par la transformation du fibrinogène en fibrine .

**II- les intervenants de l'hémostase secondaire :** 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 :**

##### **A / facteurs de coagulation :**

- au nombre de 12.
- définis par: \* un nom \* un numéro (chiffre romain) \*un suffixe «a » active

- glycoprotéines
- synthétisés par le foie +++

Les principaux facteurs de la coagulation

- |                           |                                    |
|---------------------------|------------------------------------|
| *I:fibrinogène            | *XI:facteur rosenthal              |
| * II:prothrombine         | *XII:facteur Hagman                |
| *V:pro-accéléline         | *XIII: stabilisateur de la fibrine |
| *VII:pro-convertine       | *précallikréine                    |
| *VIII:anti hémophilique A | *kininogène de haut PM             |
| *IX:anti hémophilique B   |                                    |
| *X:facteur stuart         |                                    |

**Répartis sur le plan fonctionnel en 03 groupes:**

- 1) Les pro-enzymes ou zymogènes
- 2) Les cofacteurs
- 3) Les Substrats

### **1 / Les pro-enzymes ou zymogènes:**

**a / Les zymogènes de la sérine protéase :** existent dans le plasma sous forme de pro-enzymes inactives. Ils possèdent un site actif formé de résidus d'AA dans une configuration très spécifique, en particulier un **résidu sérine** d'où le terme de "sérine protéase" .

- II,VII,IX,X (PPSB): vit k dépendant
- XI, XII, précallikréine ,KHPM : facteurs de contact

**b / Un zymogène d'une transglutaminase:** le facteur XIIIa intervient pour stabiliser le caillot de Fibrine en établissant des liaisons covalentes entre les monomères de fibrine.

### **2/ Les cofacteurs:**

- \* Le facteur V, VIII et le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) jouent un rôle de cofacteurs càd accélèrent l'interaction entre une enzyme et son substrat.
- \* En l'absence de cofacteurs les réactions enzymatiques seront très lentes

**3 / Substrat:** représenté par fibrinogène : GP indispensable pour :

- \* l'hémostase primaire : l'agrégation plaquettaire
- \* la coagulation: après son activation se transforme en fibrine

**B/ Les inhibiteurs physiologiques de la coagulation** :Protéines plasmatiques de différentes familles

- \* les serpins.
- \* protéine C et protéine .
- \* Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)

**1-Les serpins:** sont des inhibiteurs des sérines protéases, et sont:

- \*l'antithrombine (AT)
- \*le cofacteur II de l'héparine.
- \*alpha 1 anti-trypsin et le C1 inhibiteur (plus accessoirement)

## **2-protéine C et protéine S:** vit k dépendant

- protéine C: est le zymogène d'une sérine Protéase
- protéine S: est le cofacteur de prot C activée

## **3-TFPI :** tissus factor pathawy inhibitor

### **C/ -Autres:** Le calcium (IV)

- important pour la coagulation.
- permet la fixation des facteurs vit k dépendants sur les phospholipides plaquettaires.
- nécessaire à l'expression enzymatique du facteur XIIIa.
- nécessaire à la stabilisation des cofacteurs :V et VIIIa

## **III- Mécanisme de la coagulation:**

- Initiation de la coagulation par le facteur tissulaire.
- Génération de la thrombine et amplification du processus.
- Activation du facteur XI et phase contact.
- Formation du caillot de fibrine (la fibrino-formation).

### **1- Initiation de la coagulation par le FT :**

\*Lors d'une lésion vasculaire ,le facteur tissulaire entre en contact avec le sang et il capte le facteur VII avec une auto-activation immédiate du facteur VII.

\*Le complexe [FT/VIIa] active les facteurs : IX et X

\*Cette voie s'appelle: la voie exogène ou extrinsèque.

Le complexe [FT/VIIa] hydrolyse le facteur X en Xa. Les molécules de Xa produites hydrolysent le facteur VII présent dans le complexe [FT/VIIa] . Le facteur VII est alors transformé en VIIa très actif. La génération de facteur Xa devient donc plus importante. Celui-ci forme avec le F3P et le Ca<sup>++</sup> le **complexe prothrombinase** capable d'hydrolyser la prothrombine (II) en thrombine (IIa).

### **2- Génération de la thrombine et amplification du processus :**

Les quelques molécules de thrombine qui viennent d'être produites vont:

\* activer les facteurs V et VIII en Va et VIIIa qui vont alors jouer leur rôle de cofacteur de façon considérablement accrue, entraînant alors un accroissement explosif de la génération de thrombine: il s'agit de ce que l'on appelle la **double boucle de rétro-activation** de la génération de thrombine.

\* d'autres activent les facteurs XI et XIII

\* d'autres forment un complexe avec la thrombomoduline à la surface des cellules endothéliales. Ce complexe active le système protéine C et le TAFI.

### **3- Activation du facteur XI et phase contact:**

**a** -Plus lentement le VIIa va hydrolyser et activer le facteur IX en IXa; il s'agit là de la principale voie d'activation du facteur IX appelée la Boucle Josso.

L'activation du facteur IX est lente à se mettre en place, mais cette voie est prépondérante quantitativement dans la génération de thrombine.

L'activation du facteur X par le complexe FT-VIIa est au contraire très rapide; Cette voie constitue le "starter" de la coagulation permettant la génération des premières molécules de thrombine.

**b**- Il existe une autre voie d'activation du facteur IX, de moindre importance. Des molécules de thrombine activent le facteur XI; le facteur XIa active le IX.

**c**- il existe une autre voie d'activation du fact XI, qui est la voie endogène ou intrinsèque

déclenchée par le contact du sang avec le sous endothélium, faisant intervenir les Protéines dites de la phase contact:

-le Fact XII, la prékallikréine qui sont des zymogènes de sérine protéase.

- le kininogène de haut poids moléculaire(KHPM) qui joue le rôle de cofacteur.

En cas de lésion de l'endothélium, le fact XII se fixent au sous endothélium, transformant la prékallikréine en kallikréine qui active à son tour le fact XII qui lui-même active le facteur XI, celui-ci activera le IX, ce dernier en présence de Ca<sup>+</sup>,F3P(facteur 3 plaquettaire) et du VIIIa se fixera à la membrane plaquettaire et activera le X.

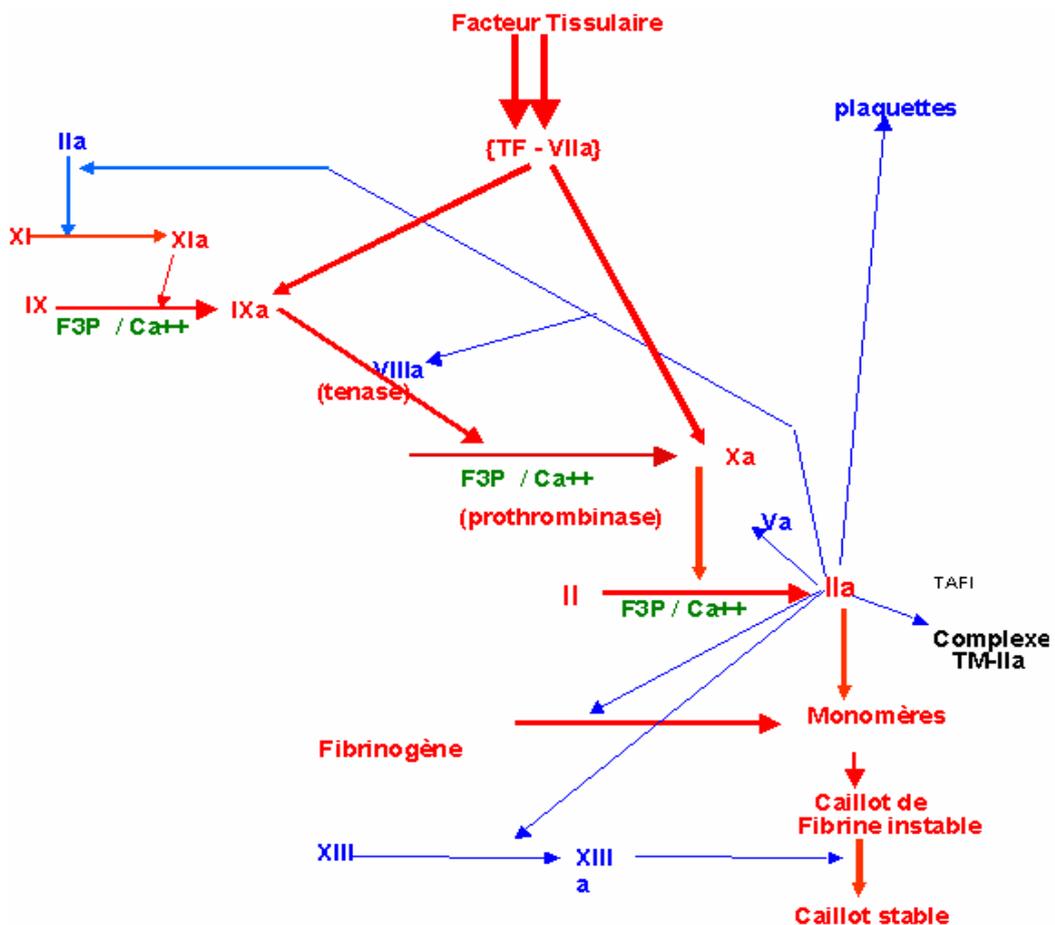
- Un déficit même complet en l'un facteurs (XII,KHPM,prékallikréine) entraîne des allongements très importants du TCA mais sans hémorragie.

- En revanche les déficits en FXI peuvent s'accompagner de Sd hémorragiques (génération de thrombine par rétro-activation) .

#### 4- Formation du caillot de fibrine(la fibrinoformation)

la thrombine va convertir le fibrinogène soluble en fibrine insoluble:

- protéolyse du fibrinogène par la thrombine (monomères de fibrine)
- polymérisation de la fibrine (polymère de fibrine)
- stabilisation de la fibrine par le XIIIa.



**IV- Régulation de la coagulation:** Les systèmes de régulation ont une grande importance physiologique pour le maintien de la fluidité du sang.

**1-l'antithrombine III :**

-inhibition rapide et irréversible de ses enzymes cibles : la thrombine (IIa), Xa, IXa, XIa

-il n'inhibe pas le VIIa

**2-le cofacteur II de l'héparine :** inhibe la thrombine

**3-la protéine C et la protéine S :** -activation régulée par un récepteur membranaire de la cellule endothéliale: la thrombomoduline

-la protéine C a (activée) a besoin pour agir d'un cofacteur: la protéine S

-les 2 protéines vont se fixer sur les phospholipides membranaires et exercent un effet anticoagulant en inactivant le: Va et VIIIa.

**4-autres :**

-alpha- antitrypsine

- C1 inhibiteur: inhibe XIa, XIIa , kallikréine

- TFPI (tissue factor pathway inhibitor): inhibe le complexe FT/VIIa , bloquant ainsi la production de Xa et IXa

## **LA FIBRINOLYSE OU POST COAGULATION**

**I- Définition :**Le système fibrinolytique dissout le caillot sanguin lorsqu'il a achevé sa fonction hémostatique et permet ainsi le rétablissement du flux sanguin au niveau du vaisseau initialement lésé. La fibrinolyse fait intervenir des facteurs plasmatiques, tissulaires, les plaquettes et d'autres cellules sanguines. Ceci est possible grâce à la conversion du plasminogène en plasmine qui dégrade la fibrine.

**II-Le système fibrinolytique :**

**a- le plasminogène:** glycoprotéine synthétisé par le foie sa concentration plasmatique est d'environ 200 µg/ml (0,2 ng/ml)

**b- les activateurs du plasminogène (t-PA)** enzyme de la cellule endothéliale des veines et de l'artère pulmonaire

- urokinase(U-PA) synthétisé par le rein

-activateur d'origine bactérienne : Streptokinase; staphylokinase

**c- les inhibiteurs de la fibrinolyse.**

peuvent agir, soit en inhibant directement la plasmine, soit en bloquant la transformation du plasminogène en plasmine:

\*\*\*alpha-2 anti plasmine

\*\*\*les inhibiteurs des activateurs du plasminogène (PAI).

-Le caillot constitué de fibrine polymérisée est dissout sous l'action du système fibrinolytique par activation du plasminogène en plasmine qui lysera la fibrine et le fibrinogène en donnant les produits de dégradation : PDF à action anticoagulante

-Les produits A, B,D,E proviennent de la dégradation du fibrinogène

-et les D- dimères proviennent de la dégradation de la fibrine

## **EXPLORATION DE L'HÉMOSTASE PRIMAIRE**

**-Temps de saignement:** < 10 minutes par méthode d Ivy: un brassard assure une pression de 40mm de mercure ,on incise 1mm de profondeur et 1 cm de longueur à La face antéro-externe du 1/3 supérieur de l'avant bras.

-Actuellement la mesure du **temps d'occlusion(TO)**sur l'appareil Platlet Function Analyzer (PFA - 100) tend à prendre une place importante

-**Numération des plaquettes:** 150000-450000 G/L.

-**Dosage du FVW:** La restocetine déclenche l'agrégation plaquettaire chez le sujet normal mais pas chez le malade fvw. Le résultat est exprimé en % d'activité par rapport à un plasma normal.

Méthode immunologique: VwAg à l'aide de AC antifvw.

-**L'étude des fonctions plaquettaire:**

-\*\*L'adhésion des plaquettes aux billes de verre

-\*\*L'agrégation par un agrégomètre en présence d'agent inducteurs ADP, aspirine et le collagène

-\*\*La cytométrie en flux (CMF) permet un diagnostic aisé des thrombopathies.

-**La résistance capillaire:** capillarodynamomètre, on compte le nombre de pétéchies

## EXPLORATION DE LA COAGULATION

**1-temps de céphaline activé: TCA :** mesure le temps de coagulation à 37°C d'un plasma en présence de Phospholipides (céphaline), d'un activateur de la phase contact (kaoline) et de Ca<sup>+</sup>.

- exprimé par rapport au temps du plasma témoin, dont la valeur moyenne varie entre 30 et 40 sec

- le TCA est allongé lorsqu'il dépasse de 10 secondes le temps du témoin ou TCAm/TCA<sub>t</sub> > 1,2

- le TCA explore la voie endogène: XII, kHPM, prékallikréine, XI, IX, VIII, et la voie commune: X, V, II, et le fibrinogène

-il n'explore pas les plaquettes, ni le facteur VII.

**2-temps de quick: TQ :** C'est le temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté déplaquetté après adjonction de thromboplastine et de calcium

- exprimé par rapport à celui d'un témoin il voisine 12 à 14 secondes, pathologique : > 2 sec par rapport au témoin

- explore la voie exogène: VII et la voie commune: X, V, II, et le fibrinogène.

-exprimé en % : taux de prothrombine (TP) qui est normal lorsqu'il est ≥ 70%, pathologique si < 70%

-et en Ratio Normalisé International (INR) uniquement pour les malades sous antivitamine K (AVK).

**3-Dosage de fibrinogène :** le taux normal est de 2 à 4 g/l

**4-le temps de thrombine:** mesure le temps de coagulation du plasma citraté en présence de thrombine, compris entre 15 et 20 secondes, pathologique si différence de 3 sec par rapport au témoin

**5-dosage spécifique des facteurs de coagulation:**

- effectué lorsque les tests de dépistage (TCA, TQ) sont anormaux

- peuvent être dosés individuellement

- permet d'identifier précisément une anomalie de la coagulation et de la quantifier.

**6- recherche des inhibiteurs ou d'anticoagulants circulants: ACC :** un inhibiteur est présent lorsque dans un mélange à parts égales de plasma du malade et plasma du témoin ne corrige pas le déficit et le temps de coagulation.

## EXPLORATION DE LA FIBRINOLYSE

**1-dosage des PDF:** les valeurs normales sont < à 10 µg/ml

**2-le temps de lyse des euglobulines** ou test de Fearuley: il est > 3 heures, évalue la fibrinolyse

**3-les dosages du plasminogène, de ses activateurs et ses inhibiteurs**

