

Formation continue ANTLM

Concept actuel de l'hémostase

A. MASRAR, S. BENKIRANE

Laboratoire Central d'Hématologie, CHU Ibn Sina Rabat

Journée Hémostase

Rabat, 27 Avril 2019

Trois étapes essentielles de l'hémostase

- ✓ Hémostase primaire → Caillot
essentiellement plaquettaire
- ✓ Coagulation → Caillot
insoluble fibrinoplaquettaire
- ✓ Fibrinolyse → Dégradation du caillot
fibrinoplaquettaire.

>>> Mécanismes de l'hémostase dépendent de l'importance de la lésion vasculaire :

- ❑ Hémostase primaire suffit à arrêter le saignement au niveau des capillaires.
- ❑ Hémostase primaire doit être renforcée par la coagulation si le vaisseau lésé est de plus gros calibre (veine, artère).

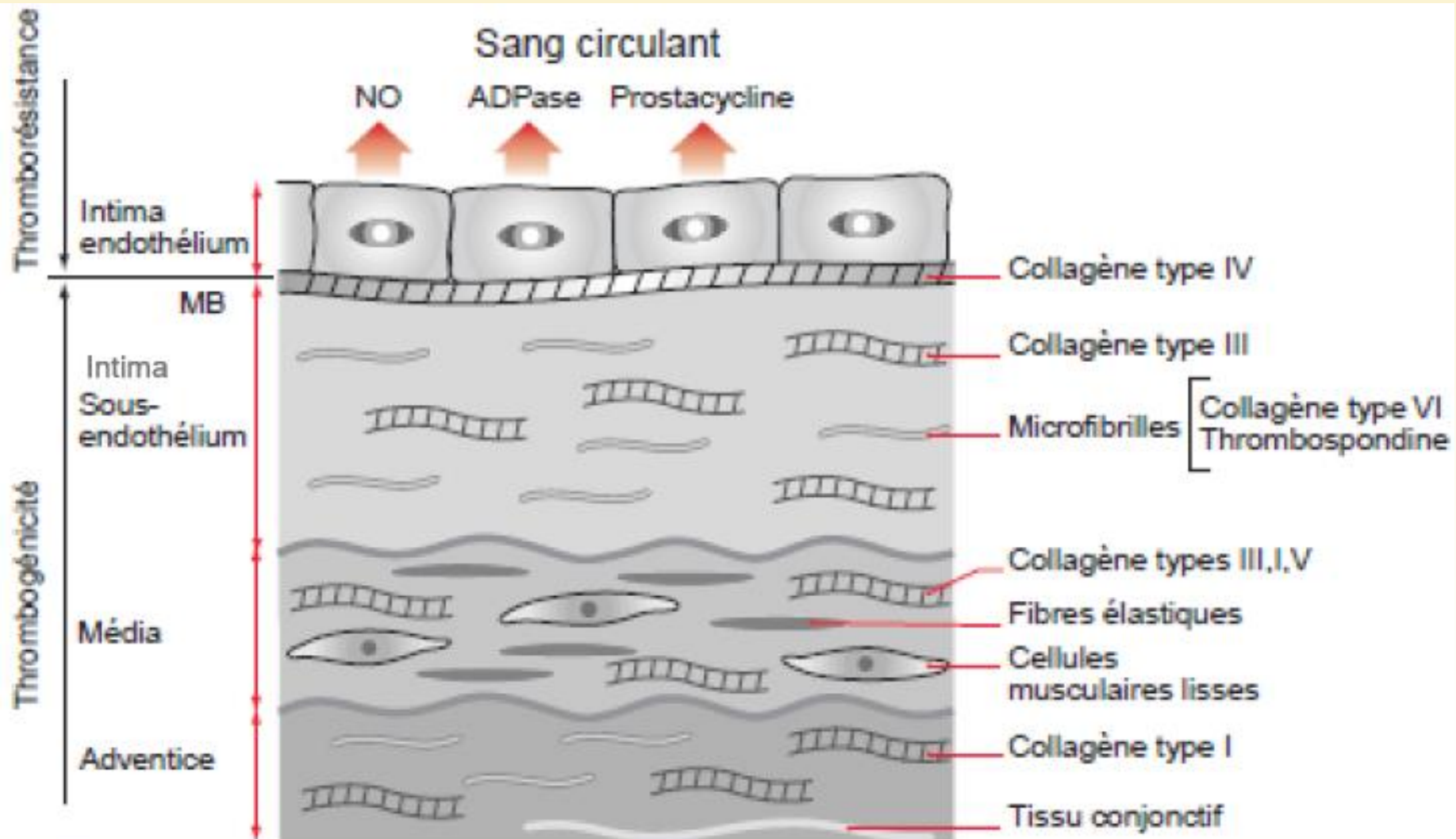
Paroi vasculaire

>>> veine, artère, veinule ou artériole : Trois tuniques concentriques :

- ❖ Intima : endothélium + sous endothélium
- ❖ Média
- ❖ Adventice.

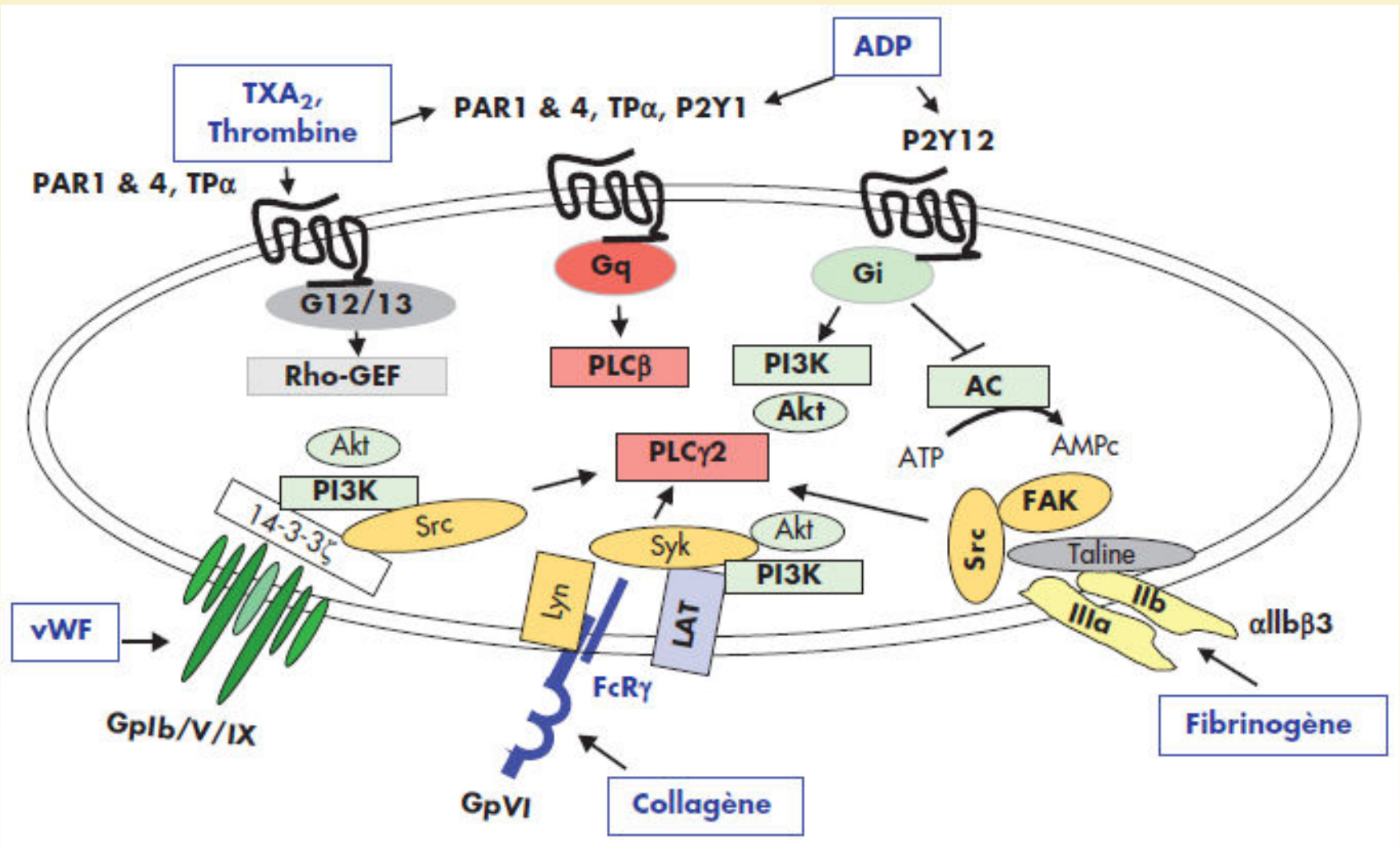
>>> Paroi capillaire : Intima.

Paroi vasculaire



Etapes de l'hémostase primaire

- >>> La lésion vasculaire entraîne une vasoconstriction temporaire et met en contact le sang avec les structures du sous-endothélium.



Récepteurs plaquettaires promouvant l'adhésion au sous-endothélium lésé, facilitant la sécrétion granulaire, autorisant l'agrégation plaquettaire.

Etape d'adhésion au sous endothélium

Adhésion plaquettaire au vWF:

Les PLT interagissent avec le vWF ancré dans le sous endothélium. Le vWF change de conformation permettant sa liaison aux plaquettes via la GP Ib-IX.

>>> A l'inverse, le vWF circulant ne se fixe pas aux PLT, sa principale fonction est d'assurer le transport du FVIII et maintenir sa stabilité.

Adhésion des plaquettes au collagène:

- >>> Les PLT adhèrent aux fibres de collagène via :
- GPVI
- Intégrine alpha2-bêta 1 (GPIaIIa).

Etape d'activation plaquettaire

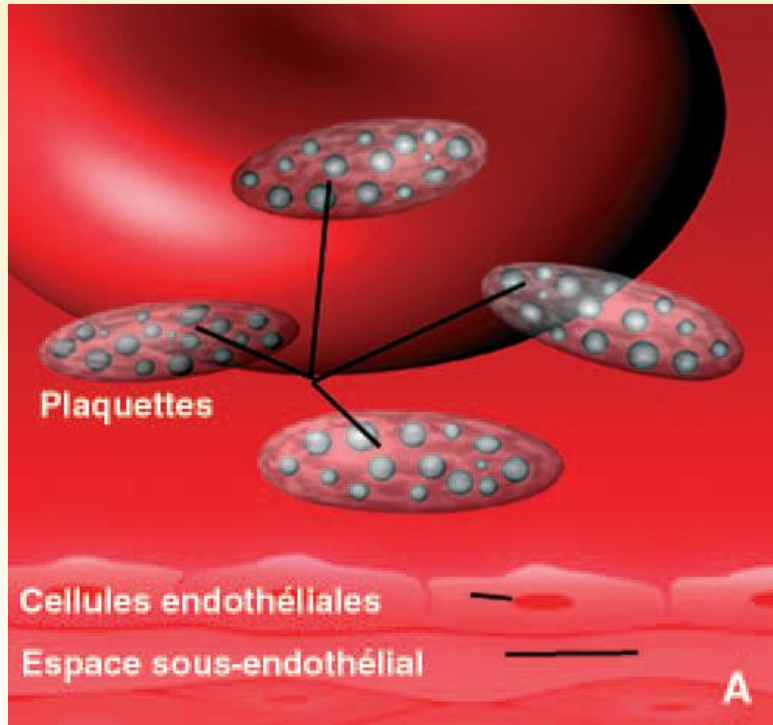
Changement morphologique:

- ❖ PLT deviennent sphériques et émettent des pseudopodes.
- ❖ Granules se regroupent et leurs membranes fusionnent avec celles du système canaliculaire ouvert.

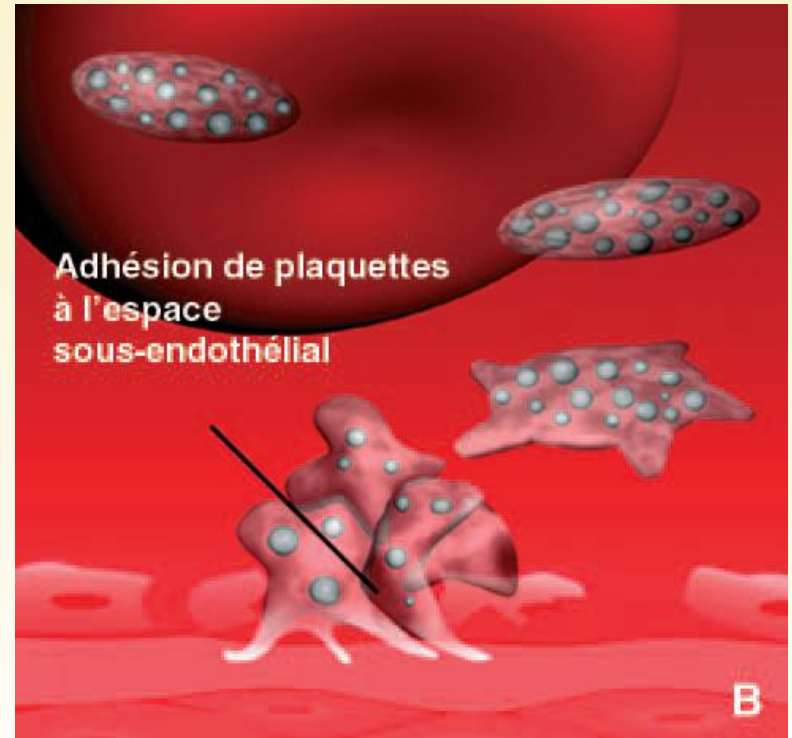
Etape d'activation plaquettaire

Sécrétion rapide du contenu des granules:

- ❖ Granules denses libèrent l'ADP et la sérotonine (proagrégants)
- ❖ Granules α libèrent des protéines qui vont participer à l'agrégation des PLT (fibrinogène) ou à l'activation de la coagulation (facteurs V, VIII).



État basal.

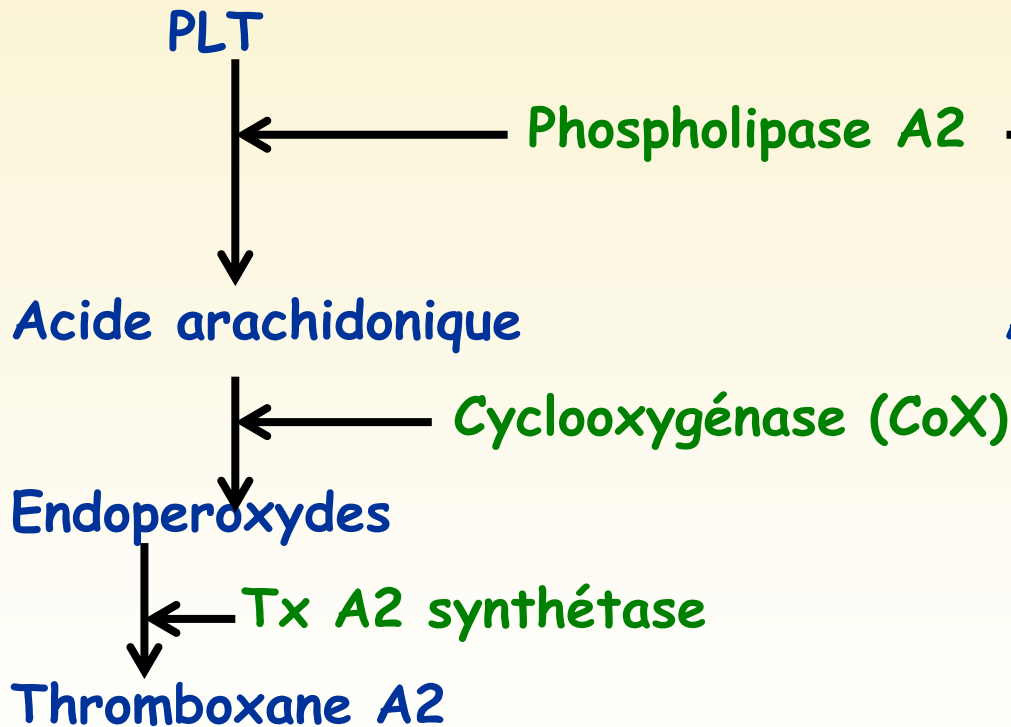


Lésion endothéliale,
adhésion puis activation
plaquettaire.

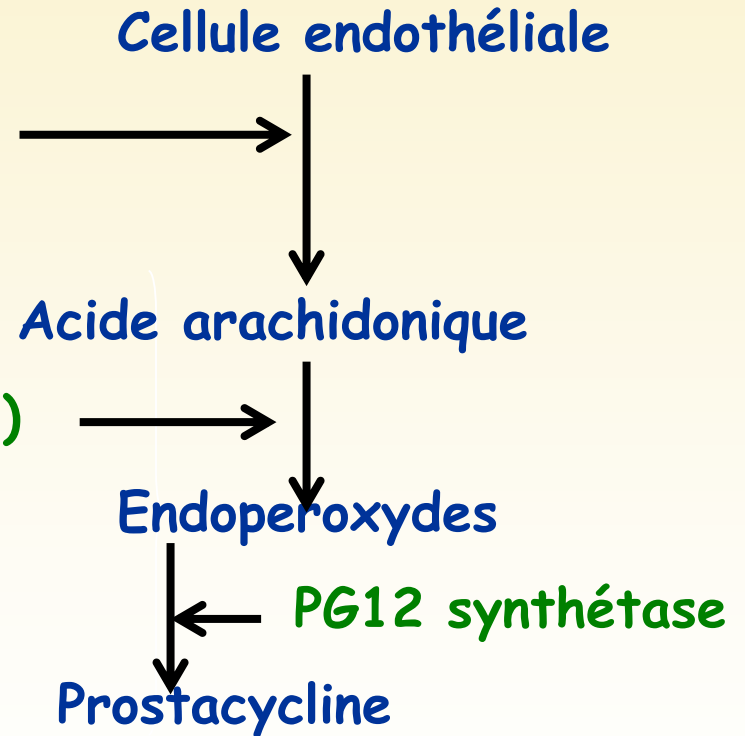
Métabolisme des prostaglandines :

Phospholipides membranaires

Phospholipides membranaires



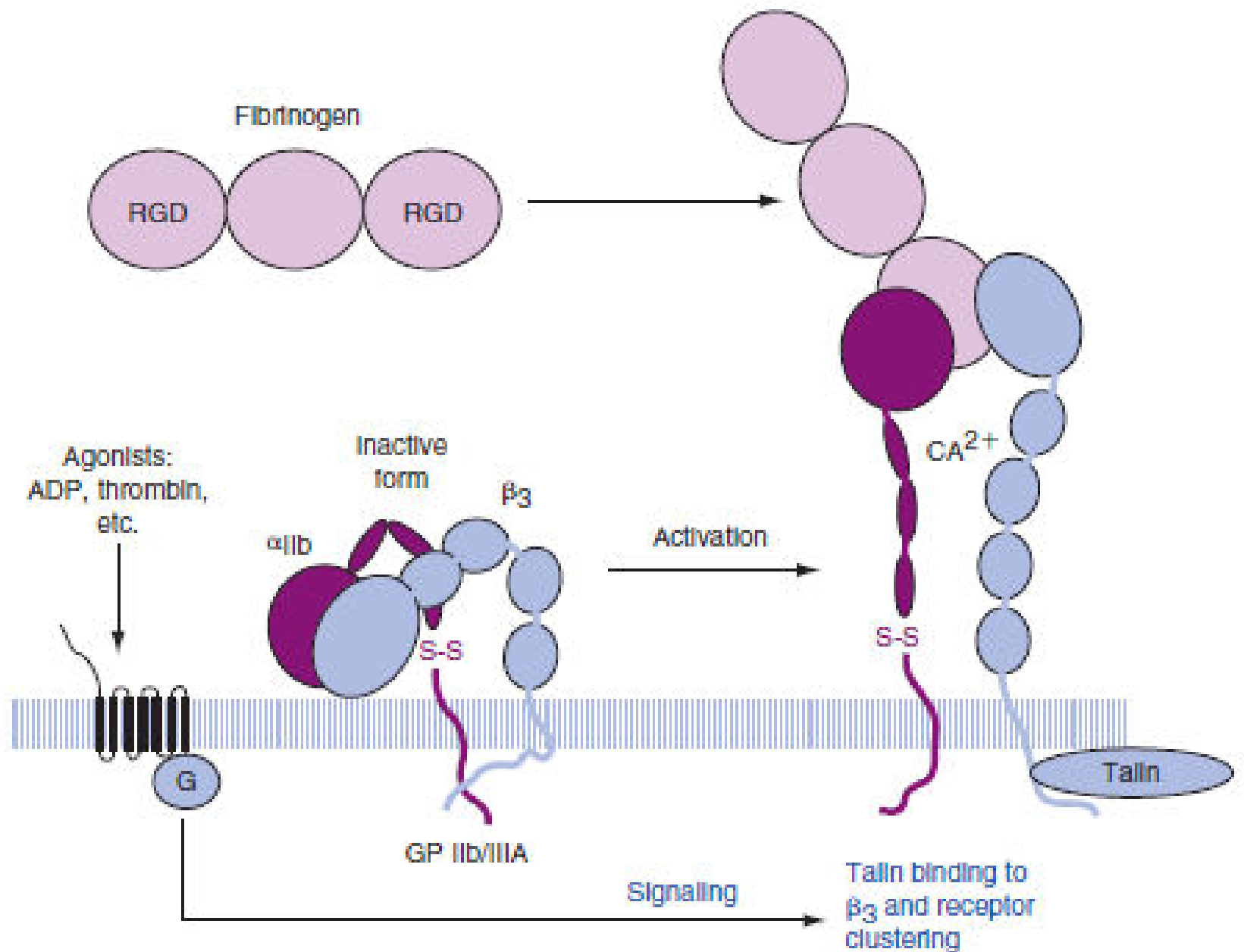
TxA2, puissant proagrégant et vasoconstricteur.



PG12, puissant antiagrégant et vasodilatateur.

Agrégation des PLT

- >>> Lorsque les PLT sont activées, l'intégrine GPIIb-IIIa adopte une conformation qui lui permet de reconnaître et de fixer le fibrinogène : ces interactions lient les PLT les unes aux autres pour former un agrégat.



Agrégation des PLT

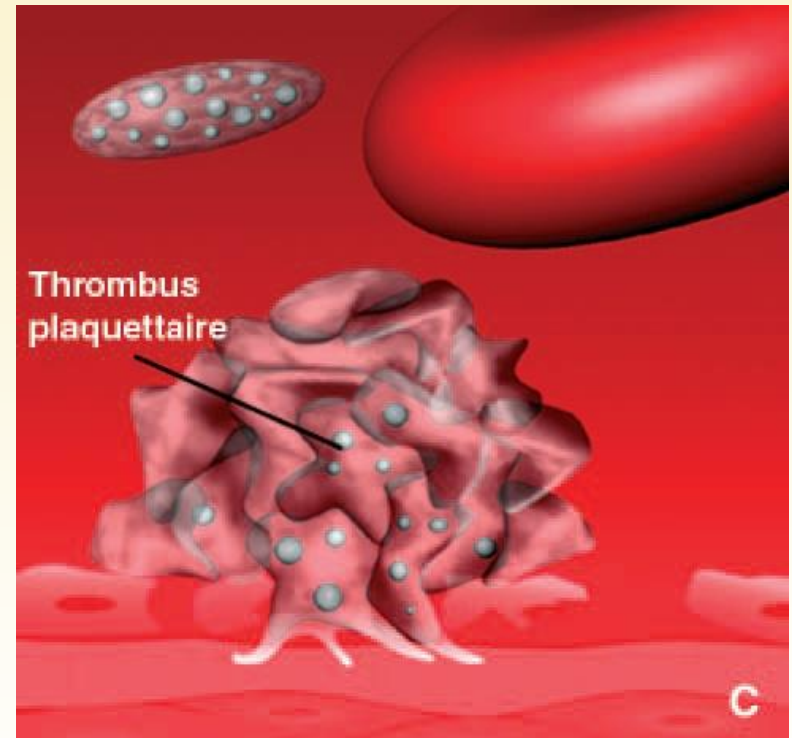
- >>> Les produits sécrétés (ADP, sérotonine) ou formés (TxA₂) lors de l'activation des PLT ont leurs propres récepteurs spécifiques à la surface des PLT : ils se fixent sur les PLT qui passent à proximité et les recrutent, amplifiant le processus d'activation plaquettaire.

>>> La thrombine, produite au terme des réactions de la coagulation qui se déroulent à la surface des PLT, est un puissant agent proagrégant (accroissement du thrombus PLT).

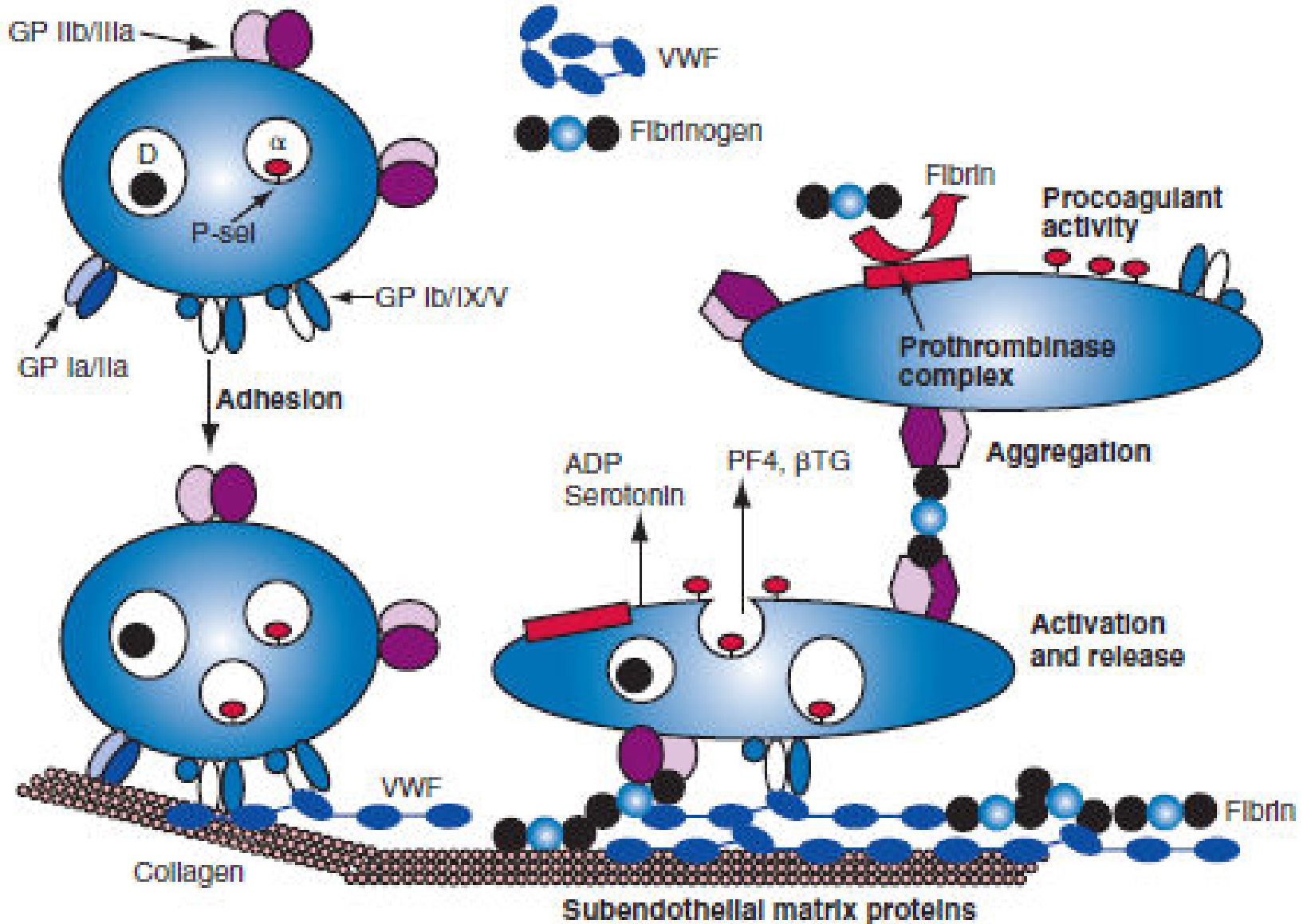
>>> Principaux stimuli des PLT:

In vivo: thrombine, ADP, collagènes, TxA₂.

In vitro: ADP, collagène, acide arachidonique, ristocétine.



Agrégation plaquettaire
formation du thrombus.



Interaction hémostase primaire-coagulation

>>> Remaniements des phospholipides membranaires des PLT : *flip-flop*

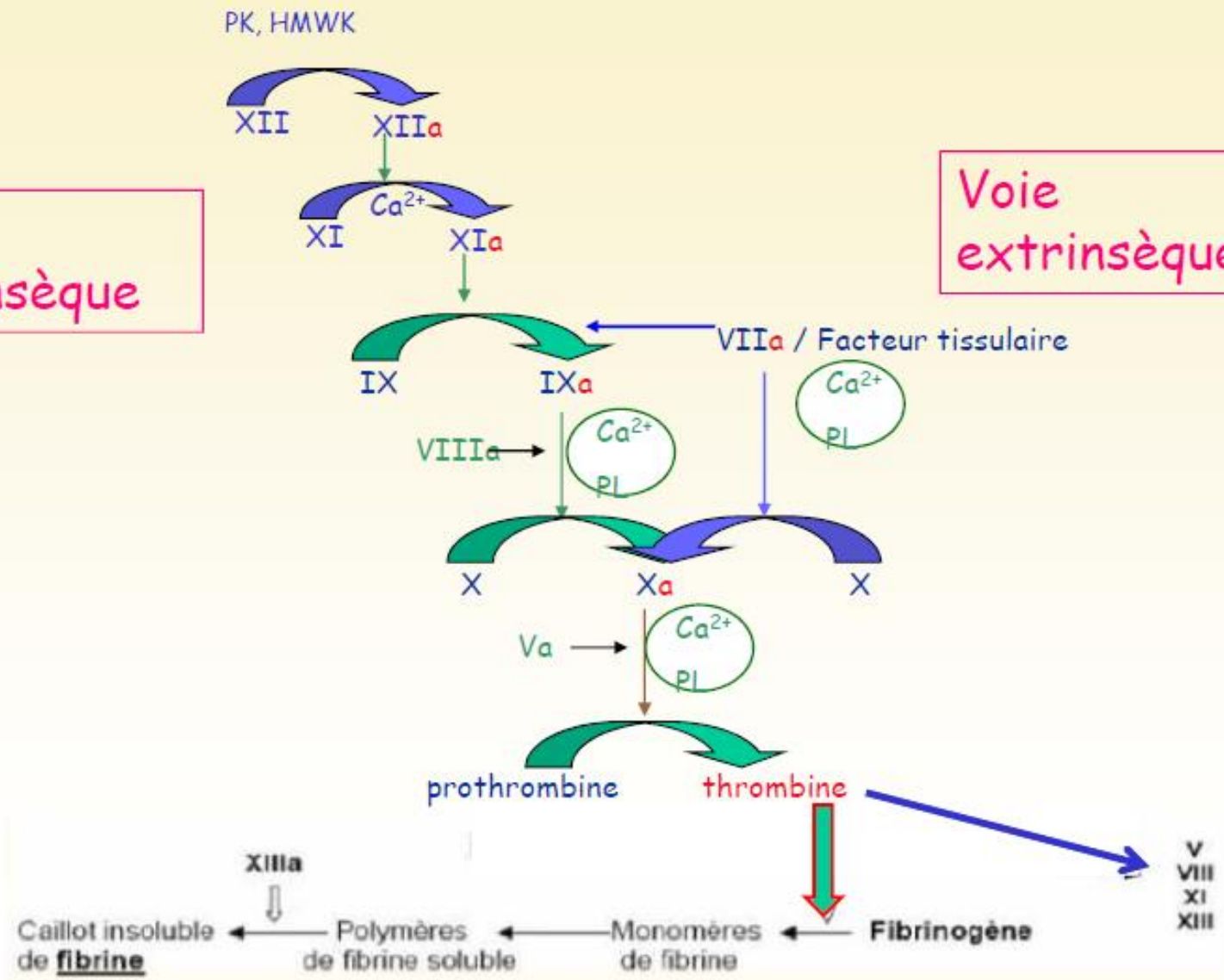
Les phospholipides anioniques (phosphatidylsérine) présents dans le feuillet interne de la membrane de la PLT au repos sont transférés en surface lorsque la cellule est activée permettant aux protéines de la coagulation de s'activer et il se crée un début de génération de la thrombine.

Etapes de la coagulation

Concept classique

Voie intrinsèque

Voie extrinsèque



Concept actuel de la coagulation : Une seule voie

- ❖ Phase d'initiation : génération de faibles traces de thrombine à la surface de cellules exprimant du facteur tissulaire.
- ❖ Phase d'amplification : accumulation de facteurs activés à la surface des plaquettes.
- ❖ Phase de propagation : assemblage de larges complexes enzymatiques à la surface des plaquettes, génération explosive de fortes concentrations de thrombine induisant la formation d'un caillot stable.

Initiation de la coagulation

- ❖ La coagulation est initiée par le complexe FT-FVIIa.
 - >>> *FVIIa est le seul facteur activé existant à l'état de traces dans le plasma à l'état basal.*
- ❖ La liaison du FVIIa au FT entraîne une modification conformationnelle du FVII, générant encore du FVII activé.
- ❖ Le complexe FT-FVIIa peut activer le FIX **et** le FX:
 - >>> *L'activation directe du FX est faible car elle est limitée par un inhibiteur : Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI).*

- ❖ L'activation du FX par le FIXa est faible aussi car elle nécessite la présence d'un cofacteur non encore produit à cette phase : le **FVIIIa**.

- ❖ Cette phase d'initiation ne génère donc que des traces de thrombine :
 - >>> *La quantité de thrombine générée ne suffit pas pour produire la fibrine nécessaire à la constitution du caillot, mais permet le déclenchement de la phase d'amplification de la coagulation.*

Amplification de la coagulation

- ❖ La thrombine générée dans la phase d'initiation active le FVIII en le clivant et formant un hétérotrimère (FVIIIa).
 - ❖ Après que la thrombine (**et à un moindre degré le Fxa**) ont activé le FVIII, celui-ci se sépare du vWF pour se lier aux phospholipides plaquettaires sur lesquels il est concentré :
- >>> C'est donc à la surface des plaquettes que se produit la phase d'amplification** : le FIXa généré pendant la phase d'initiation est fixé de façon diffuse sur les plaquettes, où il se lie au FVIIIa en présence de calcium.

- ❖ Dans ce complexe, le FVIIIa augmente l'activation du FX par le FIXa (au moins par 10^5), induisant la production du FXa en forte concentration.
- ❖ De plus, la thrombine active le FV en FVa qui se fixe lui aussi à la surface des plaquettes.

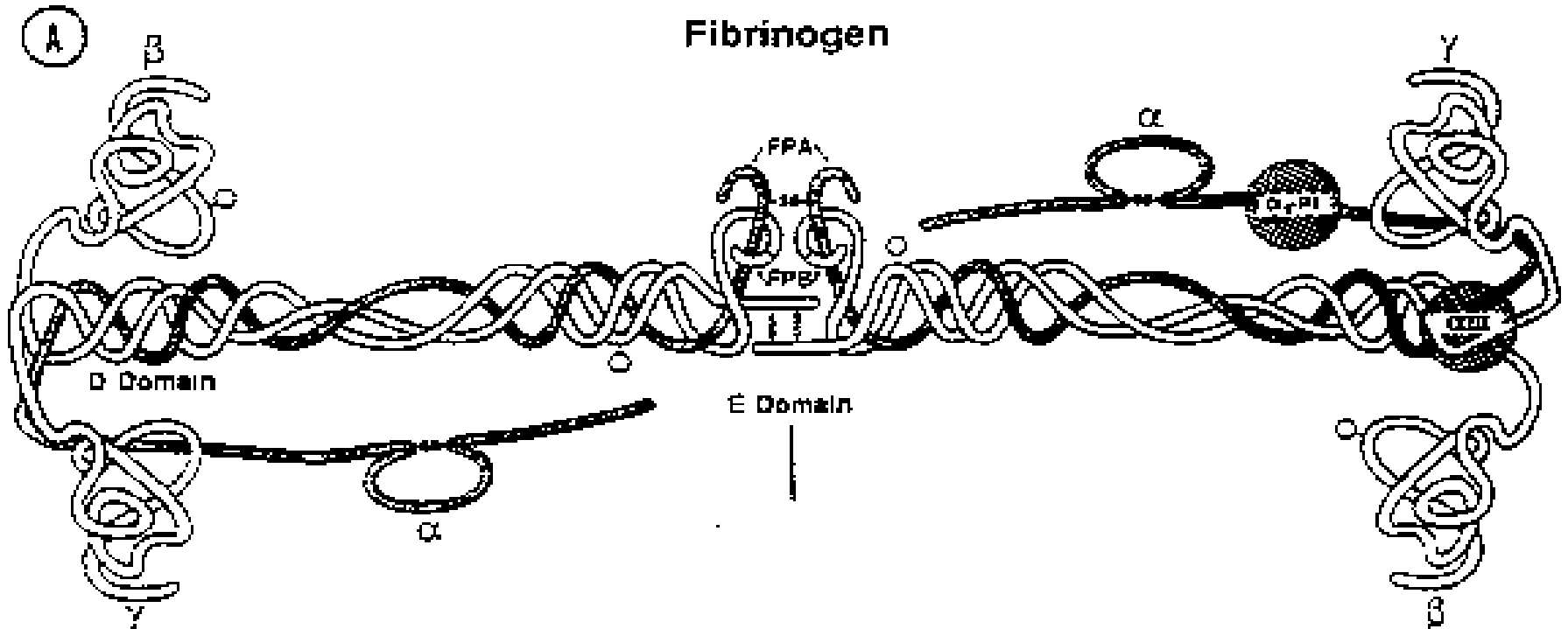
>>> À la fin de la phase d'amplification se trouvent donc à la surface des plaquettes activées des facteurs de coagulation activés en concentration importante.

Propagation de la coagulation

- >>> L'activation du FX en FXa par le complexe tenase est 50 fois supérieure à celle du FX par le complexe [FT-FVIIa].
- ❖ Le complexe [FXa-FVa] active la prothrombine en thrombine : la présence à la surface des plaquettes de concentrations élevées de facteurs activés permet la génération explosive de quantités importantes de thrombine (thrombin burst).

- ❖ La thrombine générée aura de multiples effets :
 - Activation du FXI, du FVIII et du FV,
 - Activation des plaquettes
 - Protéolyse du fibrinogène en monomères de fibrine :
La polymérisation spontanée de ces monomères crée la trame du réseau de fibrine qui structure le caillot.
- *Ce caillot est consolidé par l'action du FXIII, lui-même activé par la thrombine.*

Organisation de la molécule de fibrinogène en 3 domaines D, D et E



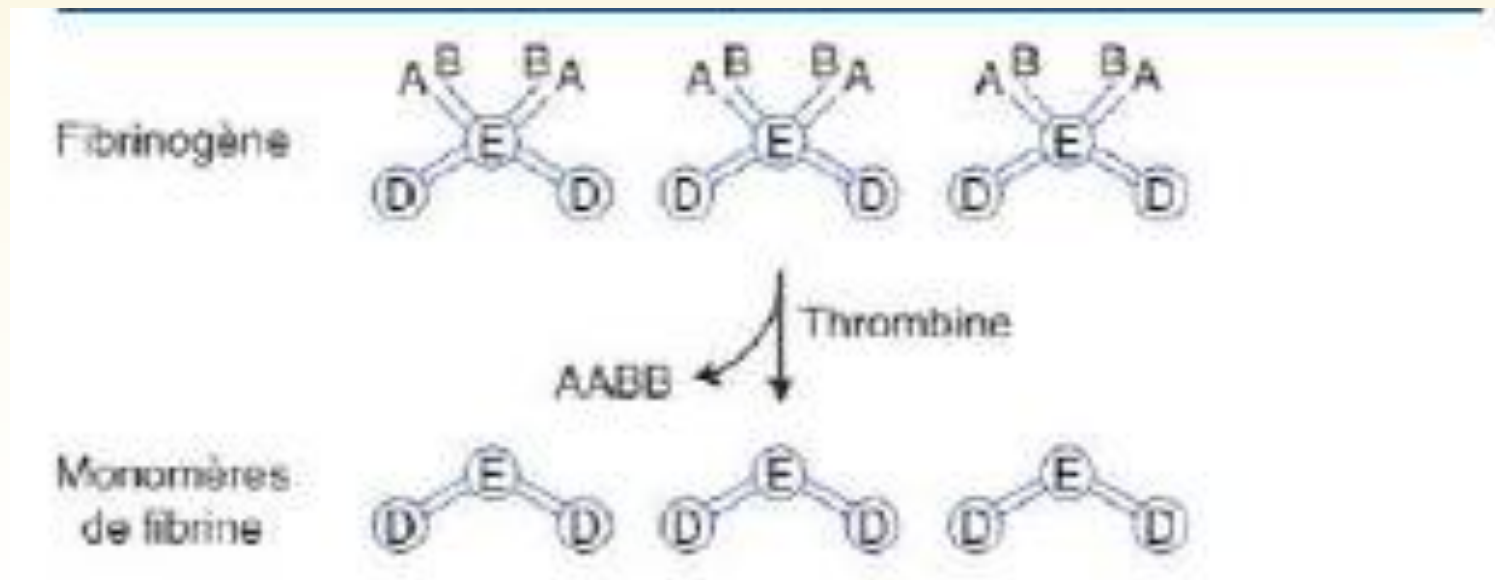
FPA: fibrinopeptide A

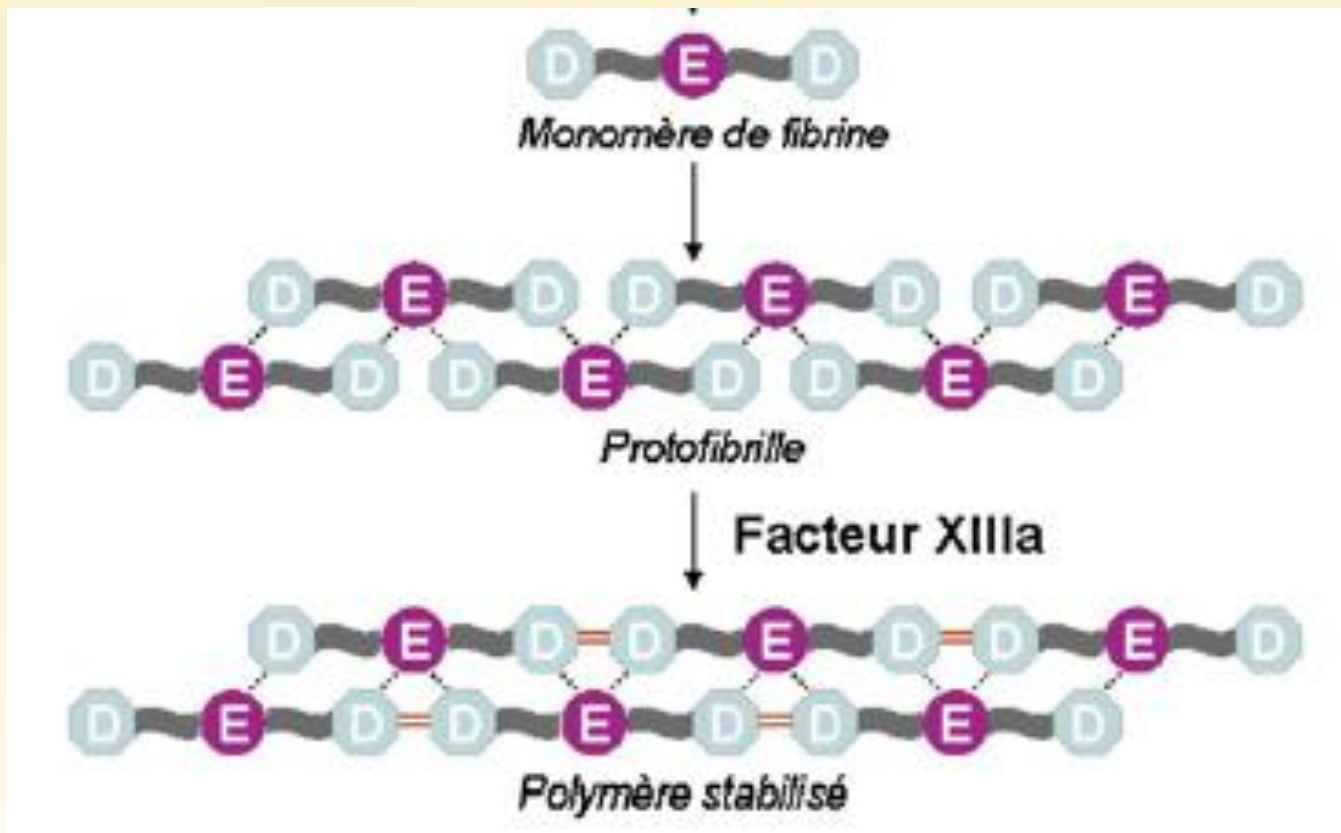
FPB: fibrinopeptide B

La thrombine clive le fibrinogène en 4 sites et donne le monomère de fibrine et 4 peptides :

2 fibrinopeptides A : FpA et A α 1-16

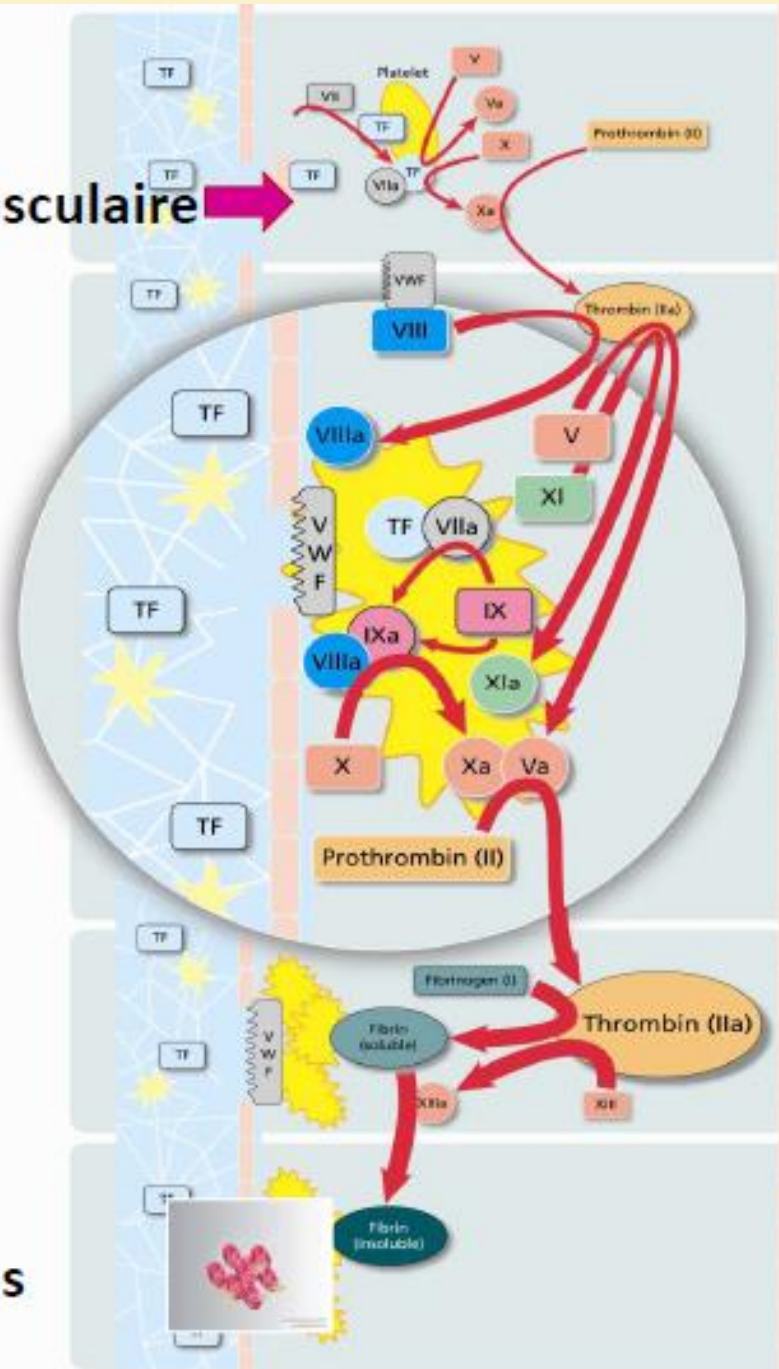
2 fibrinopeptides B : FpB et B β 1-14





Dans la fibrine soluble, les différents fragments sont liés entre eux par des liaisons covalentes générées par l'action du FXIIIa entre les chaînes α et γ : γ - γ , α - γ , α - α .

Brèche vasculaire



1-Initiation



2-Amplification

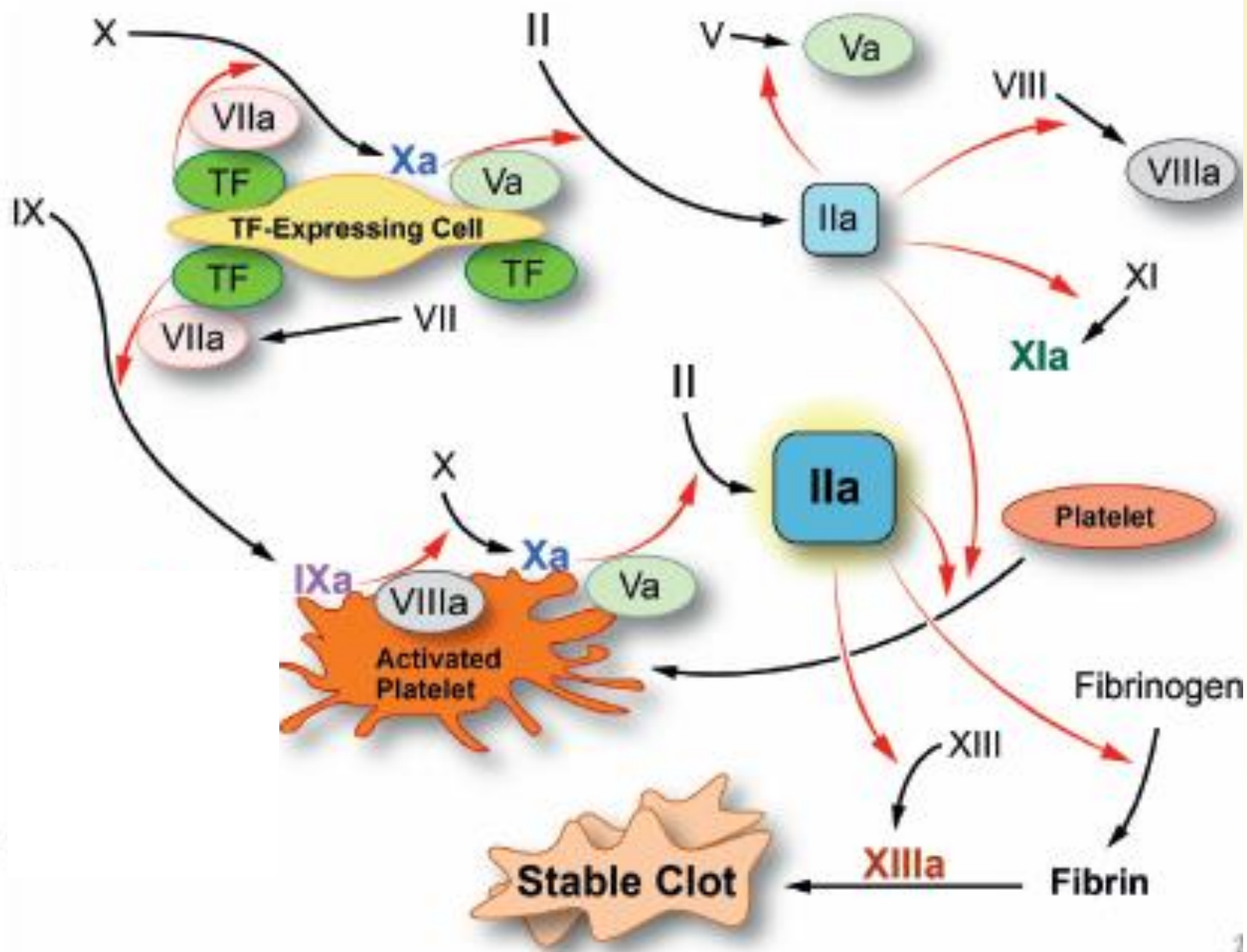


3-Propagation



4-Stabilisation

Thrombus



Régulation de la coagulation

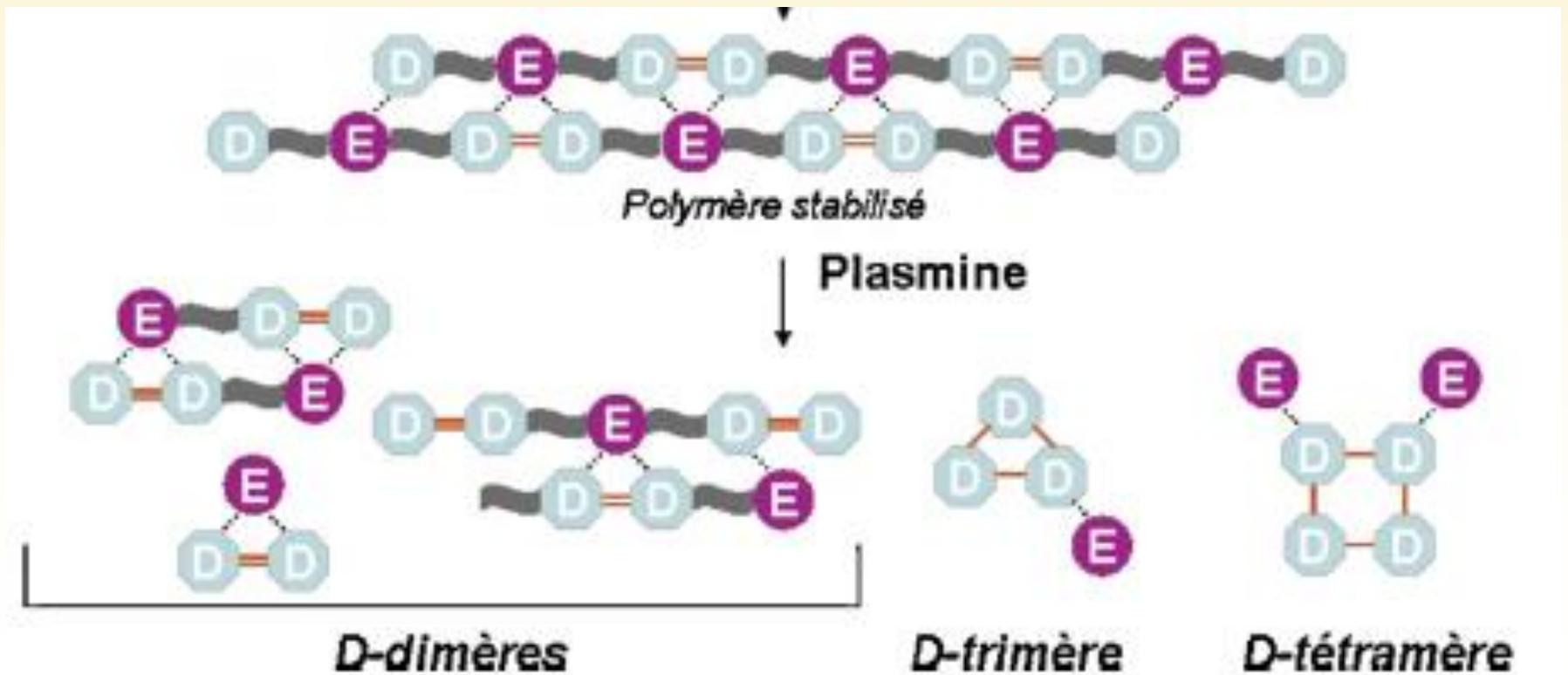
Extension de la coagulation est prévenue par :

- **le flux sanguin**
- **les propriétés antithrombotiques de la cellule endothéliale.**

❖ Mécanismes:

- *Sulfates d'héparane de l'endothélium forment un complexe avec AT plasmatique. Ce complexe inhibe les facteurs activés de la coagulation, surtout la thrombine.*
- *Thrombine se lie au récepteur PAR endothélial et induit la production de NO et prostacycline.*
- *Thrombine se fixe à la thrombomoduline et active la protéine C plasmatique. La protéine C activée (en présence de la protéine S, PLP et Ca^{2+}) clive les FVa et FVIIIa qui perdent leurs fonctions cofacteurs.*
- *Complexe Xa-TFPI-VIIa-FII bloque l'activité du FII. (si FII libéré est en faible quantité).*

La formation de fibrine déclenche la fibrinolyse conduisant à la génération de la plasmine qui dégrade la fibrine stabilisée en plusieurs dérivés parmi lesquels les D-dimères



>>> La fibrinolyse est processus physiologique permettant la dissolution progressive du caillot formé essentiellement de fibrine au niveau de la brèche vasculaire.

Plasminogène

- ❖ Zymogène de la plasmine
- ❖ Glycoprotéine plasmatique de synthèse hépatique
- ❖ Comporte dans sa structure 5 boucles (kringle) qui lui permettent de se fixer au caillot de fibrine.

Plasmine

>>> Sérine protéase ayant la capacité de scinder la fibrine en produits de dégradation de fibrine qui sont solubles dans le plasma et emportés par le flux sanguin.

>>> *En excès dans la circulation, la plasmine peut dégrader:*

- *Fibrinogène en Produits de Dégradation du Fibrinogène.*
- *FV, FVIII, FXIIIa, vWF.*

Activateurs du plasminogène

- ❖ t-PA +++ (*tissue Plasminogen Activator*) : synthétisé par les cellules endothéliales et présente une forte affinité pour la fibrine.
- ❖ Urokinase : synthétisé par les cellules endothéliales, les monocytes et les macrophages sous forme de pro-urokinase et ne se fixe pas directement à la fibrine.
- ❖ Système dépendant du FXII.

Inhibiteurs du plasminogène

Antiplasmines

- ❖ α_2 -antiplasmine : synthèse hépatique, neutralise la plasmine circulante.
- ❖ α_2 -macroglobuline intervient lorsque α_2 -antiplasmine est saturée.

PAI (Plasminogen activator inhibitor)

- ❖ PAI-1 : serpine produite par les cellules endothéliales, monocytes, hépatocytes, fibroblastes, adipocytes et mégacaryocytes; son action permet de neutraliser t-PA et urokinase.
- ❖ PAI-2 : synthétisé par le placenta lors de la grossesse.

TAFI (thrombine activatable fibrinolysis inhibitor)

>>> Synthétisé par le foie, son activité élimine les sites de la fibrine sur lesquels se lient t-PA et plasminogène.

Concept actuel de la fibrinolyse

- ❑ ***Cross-talk* fibrinolytique** : transformation du plasminogène plaquettaire en plasmine par des microvésicules portant de l'urokinase à leur surface.
- ❑ Un mécanisme similaire peut se produire sur le plasminogène lié à la fibrine ou aux protéines matricielles.

- ❑ Les microvésicules issues des cellules endothéliales et des leucocytes portent les activateurs du plasminogène de la cellule d'origine.**
- ❑ Les microvésicules immobilisent le plasminogène sur leur membrane et le transforment en plasmine.**
- ❑ Ces microvésicules sont retrouvées dans la circulation des sujets sains et au cours de pathologies vasculaires.**

Voies d'activation de la fibrinolyse

Voie du t-PA +++

- ❖ A l'état normal dans le sang circulant, il n'y a pas de génération de plasmine.
- ❖ Différents stimuli provoquent la sécrétion du t-PA par les cellules endothéliales : *thrombine, TNF, stase veineuse, anoxie, acidose, exercice physique, stress.*

- ❖ Dès sa sécrétion une partie du t-PA est neutralisée par PAI.
- ❖ t-PA se fixe sur la fibrine et active le plasminogène en plasmine au niveau du thrombus.
 - >>> *t-PA n'agit pas sur le plasminogène circulant.*

❖ La plasmine générée, réalise une activité **fibrinolytique** : protéolyse de la fibrine pour produire les *X-oligomères et D-dimères* .

❖ Un taux plasmatique normal de *D-dimères* exclut la présence d'un dépôt de fibrine évolutif (phlébite ou embolie pulmonaire).

❖ Une libération massive de t-PA entraîne un excès de formation de plasmine responsable d'une **fibrinogénolyse**

>>> *la plasmine dégrade le fibrinogène en Produits de Dégradation du Fibrinogène (PDF) qui ne contiennent pas les D-Dimères.*

Voie du système pro-urokinase

- ❖ Pro-urokinase se lie au plasminogène déjà fixé à la fibrine partiellement dégradée.
- ❖ Pro-urokinase et surtout urokinase induit la formation de plasmine en surface cellulaire.
- ❖ *Cette voie intervient dans les processus de migration cellulaire, de réponse aux stimuli chimiotactiques, de cicatrisation, dans l'embryogenèse, l'angiogenèse et dans la dissémination métastatique.*

Voie du système dépendant du FXII

- >>> FXII activé en présence du KHPM, agit sur la prékallikréine pour donner la kallikréine qui est capable d'activer la pro-urokinase en urokinase.
- >>> *In vitro, FXIIa active directement le plasminogène en plasmine.*

Conclusion

- ❑ **Approche clinico-biologique en hémostase**
- ❑ **Exploration spécialisée en hémostase par un panel hiérarchisé de tests selon contexte du patient**

Merci pour votre attention