

PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE

Chloé James

chloe.james@chu-bordeaux.fr

MCU-PH, Laboratoire d'hématologie

Hôpital Haut Lévêque

Plan du cours

Définitions

Etapas essentielles

L'hémostase primaire

I.a. Le temps vasculaire: importance endothélium-Willebrand

I.b. Le temps plaquettaire: adhesion, activation, agregation, effet procoagulant

La coagulation

Les acteurs de la cascade de la coagulation (facteurs vitaminoK dépendants)

Voie du facteur tissulaire

Voie du facteur contact

Voie commune

La fibrinoformation

La régulation de la coagulation

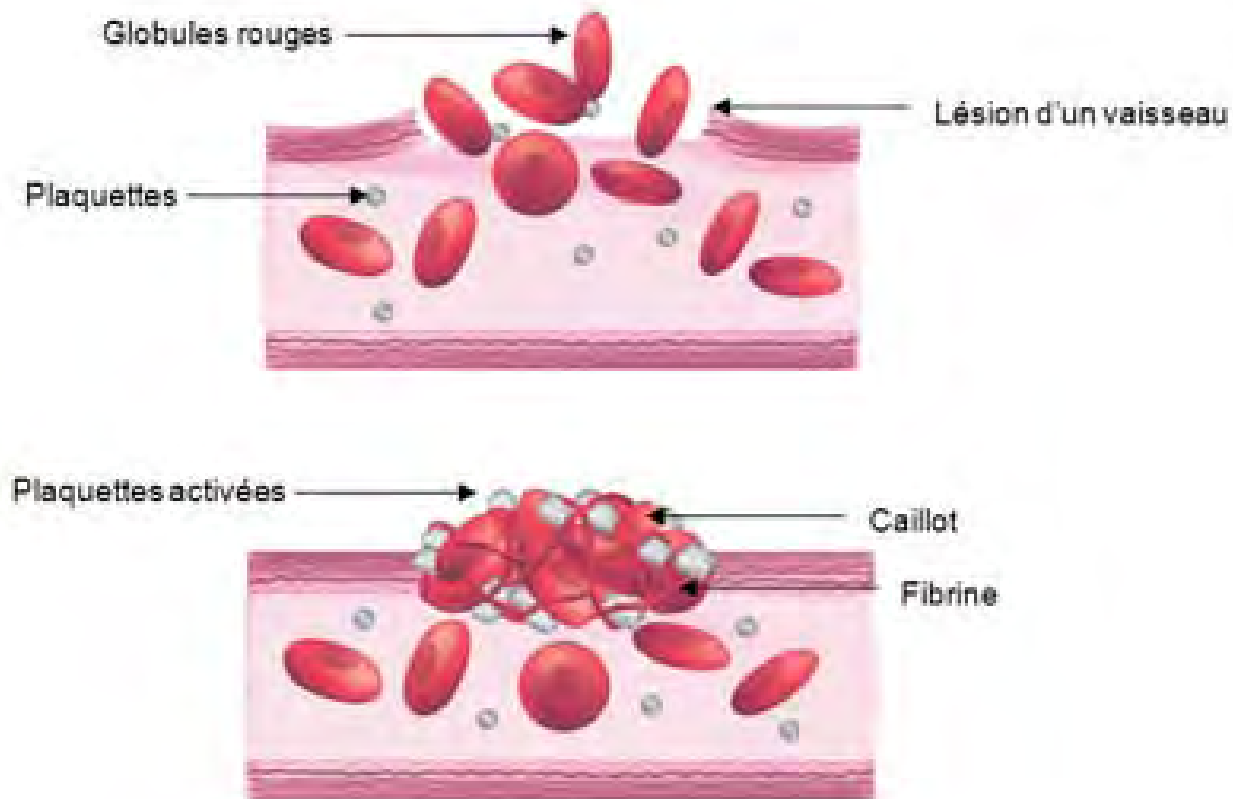
La fibrinolyse

Définition

Ensemble des différents mécanismes assurant:

- la prévention des saignements spontanés
- l'arrêt des hémorragies en cas de lésion vasculaire
- le maintien de la fluidité sanguine
- une participation dans les phénomènes de cicatrisation

- Permet de maintenir l'intégrité du vaisseau lors d'une agression vasculaire
- But: formation d'un caillot constitué de plaquettes agrégées et de fibrine enserrant dans ses mailles les éléments figurés du sang



3 étapes essentielles

- **I. L'hémostase primaire**

aboutit à la formation d'un agrégat plaquettaire (« thrombus blanc »)
permet seul l'arrêt des saignements dans les capillaires les plus fins

- Contraction vasculaire
- Adhésion plaquettaire
- Agrégation plaquettaire

- **II. La coagulation**

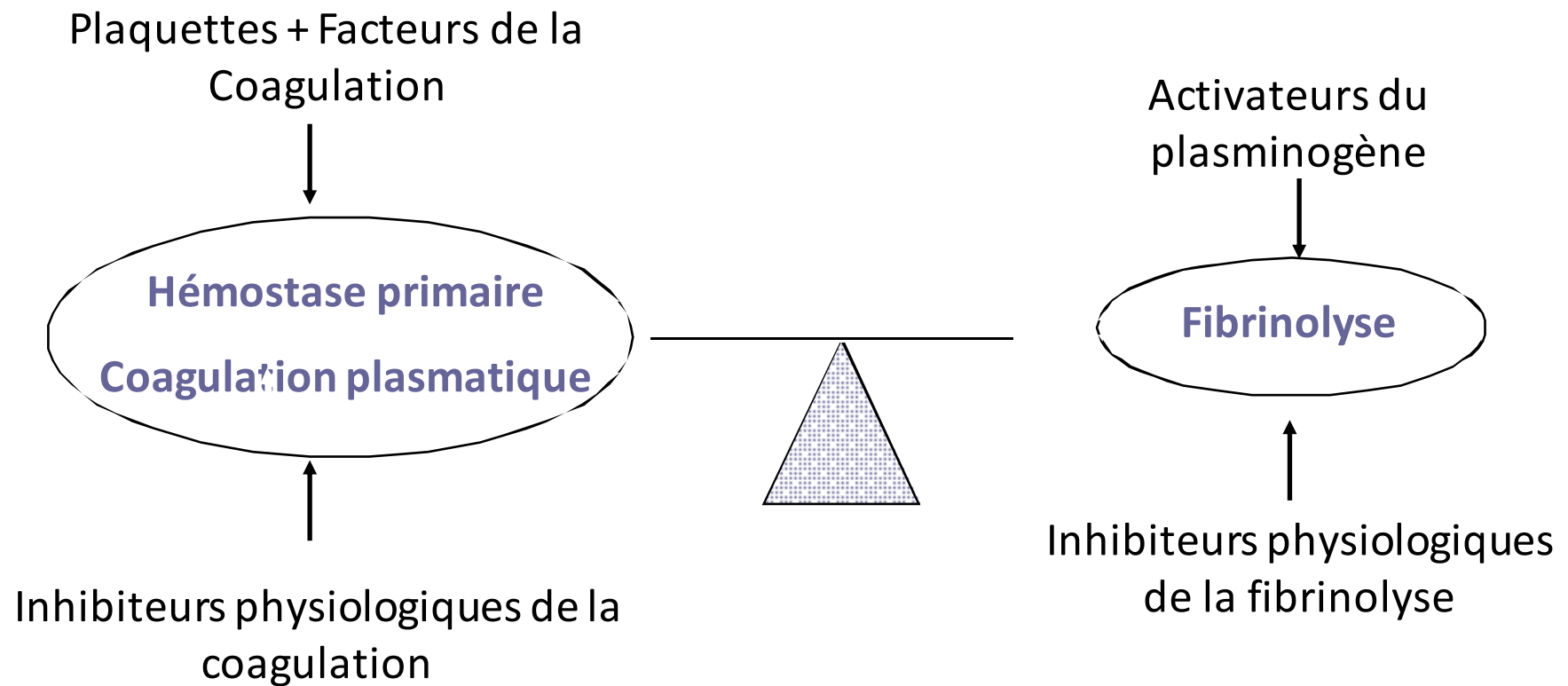
aboutit par la formation d'un réseau de fibrine, à la consolidation de l'agrégat plaquettaire

- **III. La fibrinolyse**

permet la lyse du caillot fibrino-érythro-plaquettaire, et le maintien de la perméabilité vasculaire, une fois la cicatrisation du vaisseau achevée

Régulation physiologique complexe:

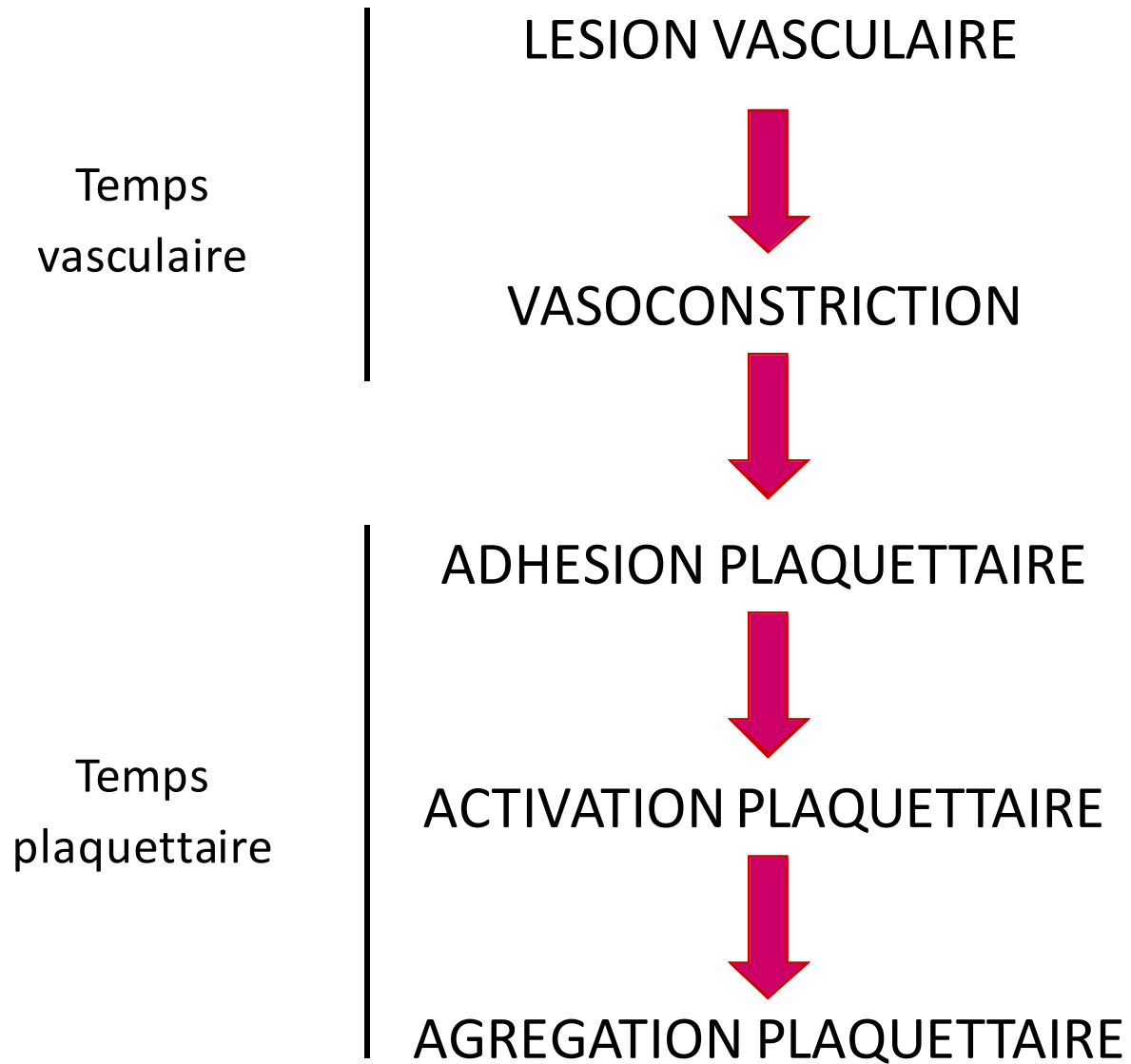
- Processus localisé et rapide
- équilibre entre processus coagulant et fibrinolyse
- régulés par des inhibiteurs et des activateurs



I. L'hémostase primaire

- **Objectif** : formation d'un agrégat plaquettaire (thrombus blanc)
- UN TEMPS VASCULAIRE et UN TEMPS PLAQUETTAIRE
Facteurs mis en jeu:
 - paroi vasculaire
 - plaquettes
 - protéines plasmatiques

Déroulement de l'hémostase primaire



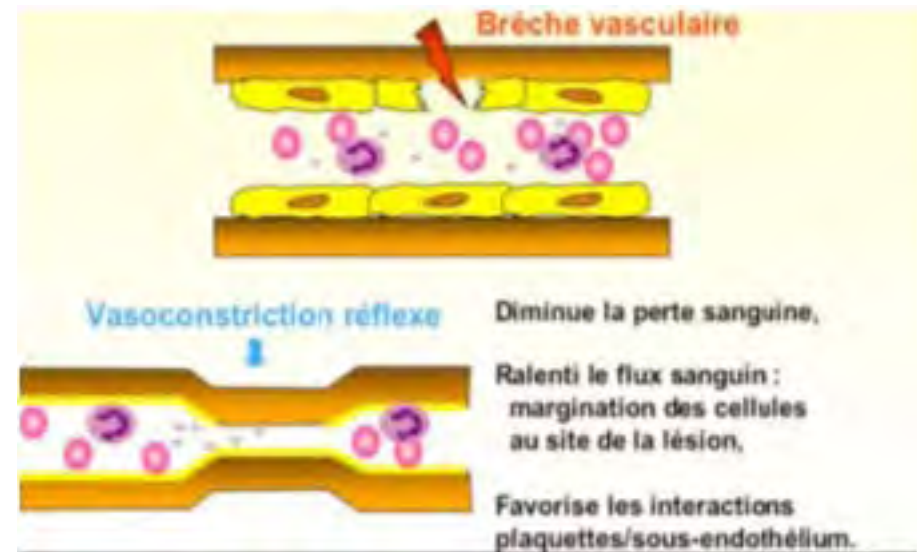
I.a. Le temps vasculaire

VASOCONSTRICTION :

Immédiate dès la rupture du vaisseau

Petits vaisseaux uniquement

Prolongée et accrue par substances libérées par les plaquettes: adrénaline, sérotonine, TXA2, ...



Diminution jusqu'à 40% du \emptyset du vaisseau

Ralentissement du débit sanguin favorisant les interactions entre plaquettes et endothélium

Forces de cisaillement

L'endothélium et le sous endothélium

- Cellules endothéliales qui tapissent les vaisseaux sont non thrombogènes
 - Mécanismes passifs (charges électro-négatives)
 - Mécanismes actifs (synthèse de molécules protectrices, comme la prostacycline (anti-agrégante), les héparanes sulfates (activent antithrombine) et la thrombomoduline (capte thrombine libérée du caillot et l'inhibe))
 - Synthétisent le facteur Willebrand (stocké dans les grains de Weibel-Palade), qui à l'état normal est en conformation inactive.
- Le sous endothélium est thrombogène (permet adhésion des plaquettes sanguines)
 - vWF
 - Collagène
 - Myofibrilles
 - Thrombospondine

I.b. Le temps plaquettaire

- Les plaquettes
- Adhésion des plaquettes. Rôle de l'interaction Willebrand-plaquettes
- Activation
- Agrégation
- Activité pro-coagulante des plaquettes

Les plaquettes

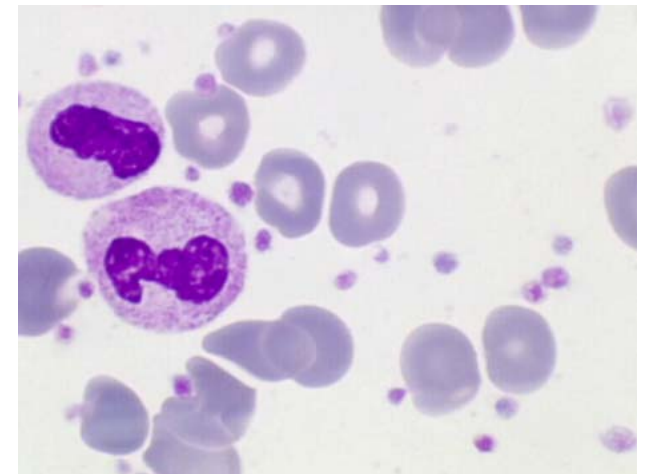
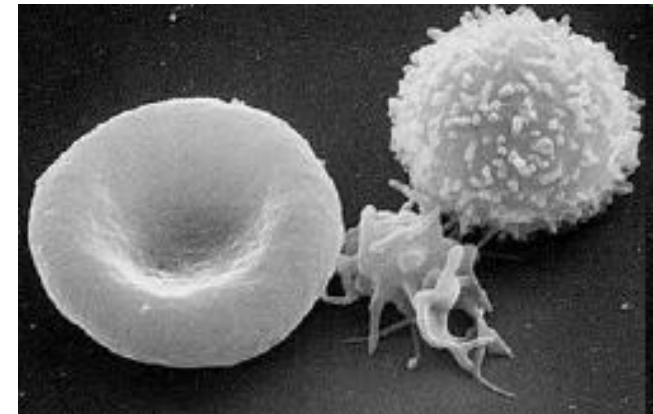
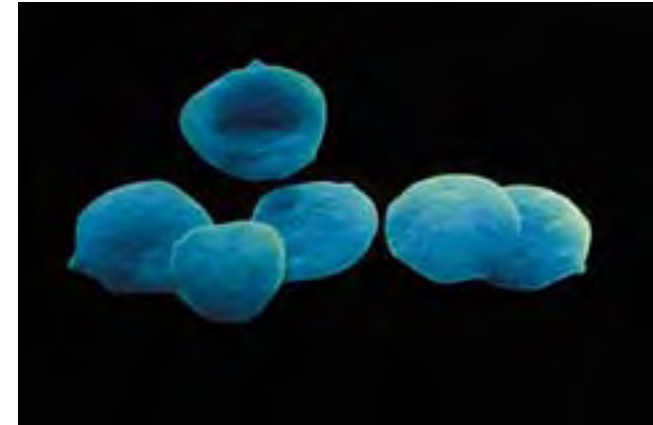
Particules anucléées discoïdes (2 à 3,5 μm)

Fragments cytoplasmiques des mégacaryocytes
(1000 à 8000)

Compartiment sanguin – 30 % séquestré de manière réversible dans la rate

8 - 10 jours (Phagocytose par macrophages du SRH de la moëlle osseuse, rate et foie)

Certain degré d'anisocytose, mieux reflété par la mesure de chaque plaquette \rightarrow VPM normal de 7 à 12 fl

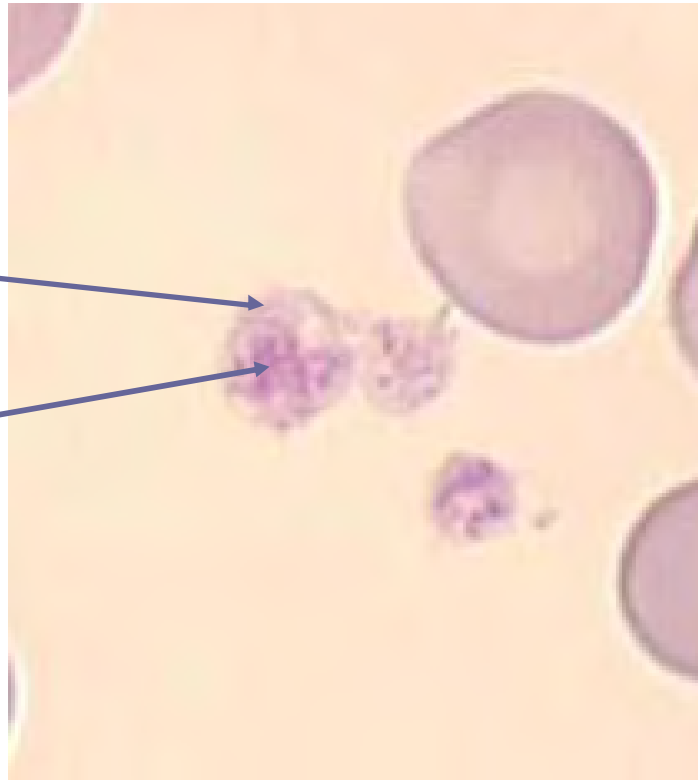


Structure d'une plaquette

Microscopie optique

Hyalomère

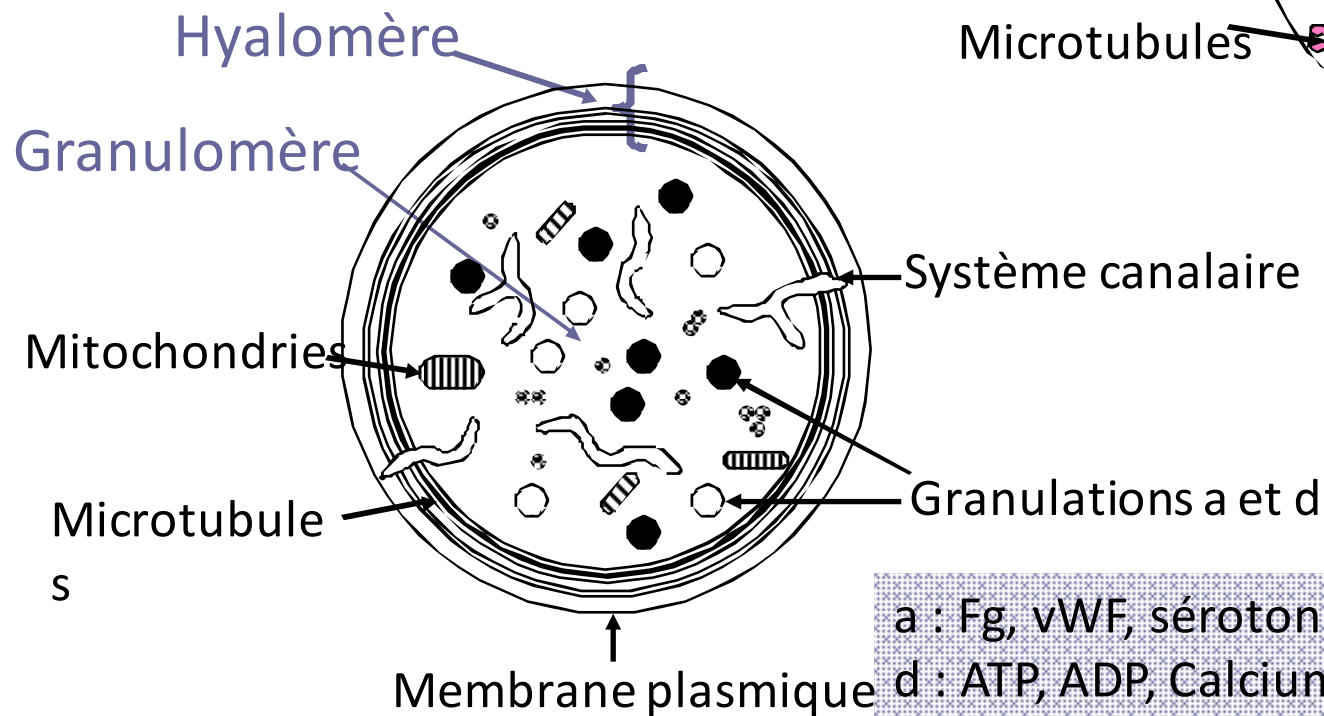
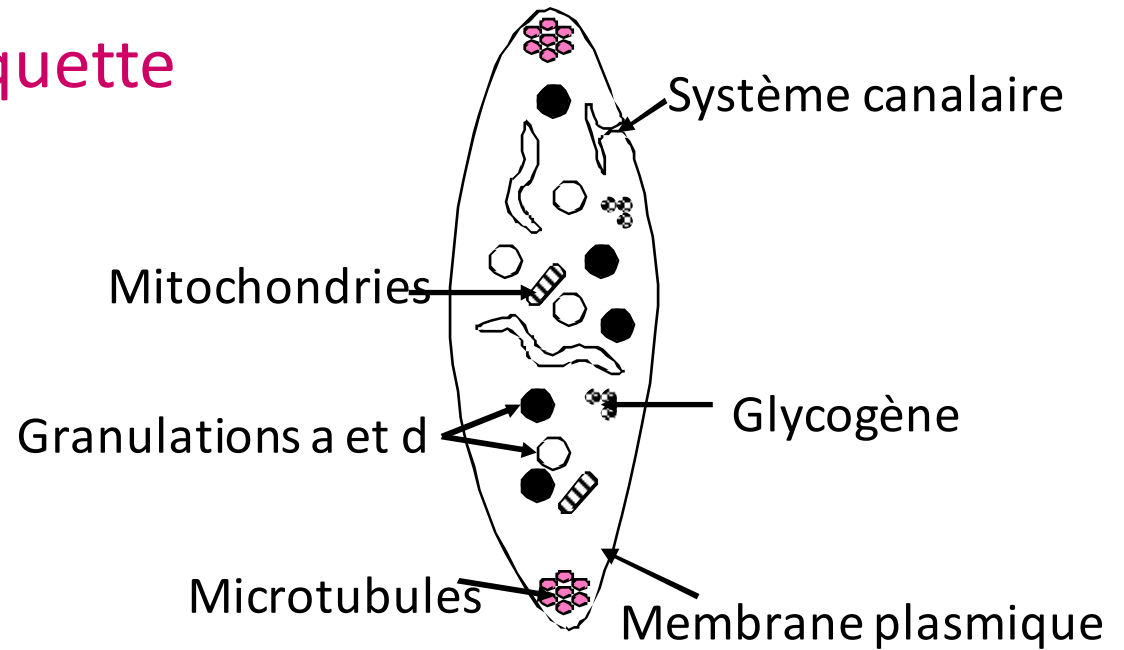
Granulomère



Sang coloré au MGG

Structure d'une plaquette

Microscopie électronique

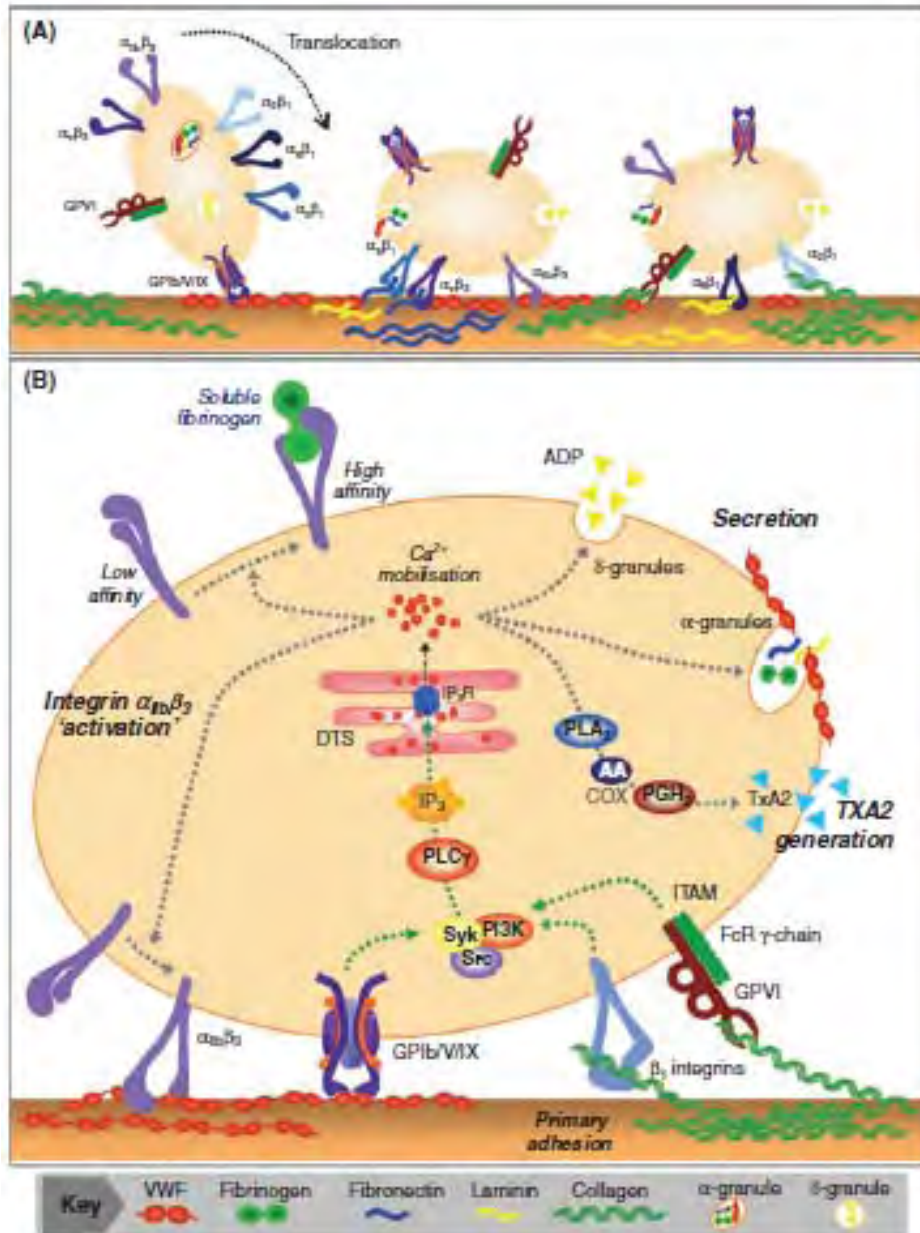


a : Fg, vWF, sérotonine, PF4, TSP, PDGF...
d : ATP, ADP, Calcium

Adhésion des plaquettes

- **Versant plaquettaire: les glycoprotéines exprimées à la surface de la membrane plaquettaire**
 - Gp Ib-IX-V (avec vWF)
 - Gp Ia-IIa (avec collagène)
 - Gp VI (avec collagène)
 - Intégrines de la famille Beta 1 (avec fibronectine, laminine)
 - Gp IIb-IIIa (avec le vWF)
- **Sur le sous-endothélium:**
 - Collagène
 - vWF
 - Fibronectine, laminine

Adhésion entraine activation



Adhésion

Activation

Wei, BJH, 2010

Le facteur Willebrand est un facteur clé dans l'adhésion plaquettaire

- Rappel: synthétisé par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes.
- Le vWF: multimère, de masse moléculaire 0.5 à $15 \cdot 10^6$ Da formés de sous-unités identiques de 270 000 Da. Les multimères de haut poids moléculaire sont ceux qui ont la meilleure activité pro-coagulante.
- Sous l'effet des forces de cisaillement, le vWF subit des modifications de conformation et devient pro-coagulant (site de reconnaissance pour GpIb exposé). Formation d'un pont moléculaire entre les plaquettes et la paroi vasculaire lésée et entre les plaquettes
- Transport du facteur VIII dans le sang circulant / stabilisation de son activité coagulante

Activation des plaquettes

L'activation est déclenchée:

in vivo: par adhésion au sous-endothélium

in vitro: par des agonistes solubles (ADP, vasopressine, sérotonine, thrombine, épinéphrine)

Se traduit par 3 phénomènes:

- La contraction plaquettaire
- La dégranulation plaquettaire (ou sécrétion)
- L'activation du complexe Gp IIb-IIIa

La contraction plaquettaire

Changement morphologique :

Sphérisation + émission de pseudopodes

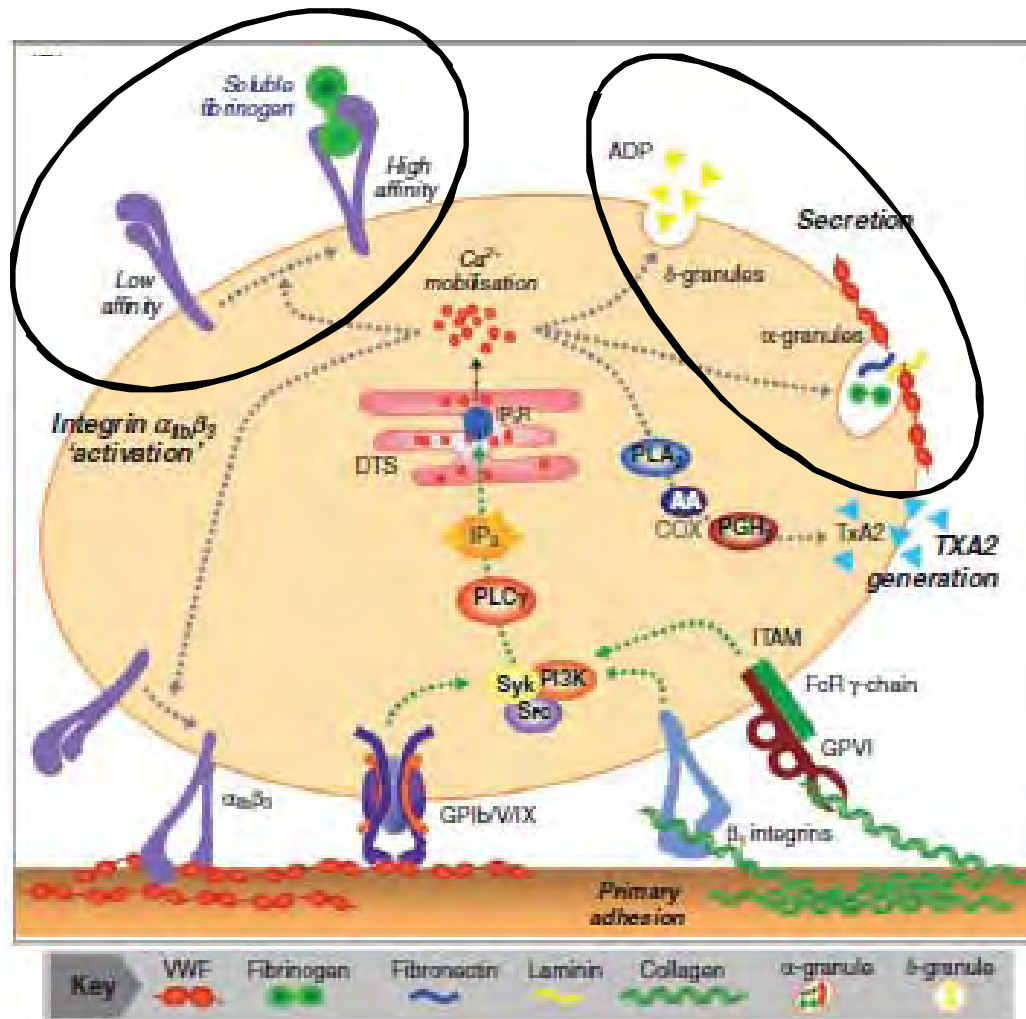
Réorganisation des protéines du cytosquelette



Plaquettes actives

Plaquette inactive

La dégranulation plaquettaire et l'activation du complexe Gp IIb-IIIa



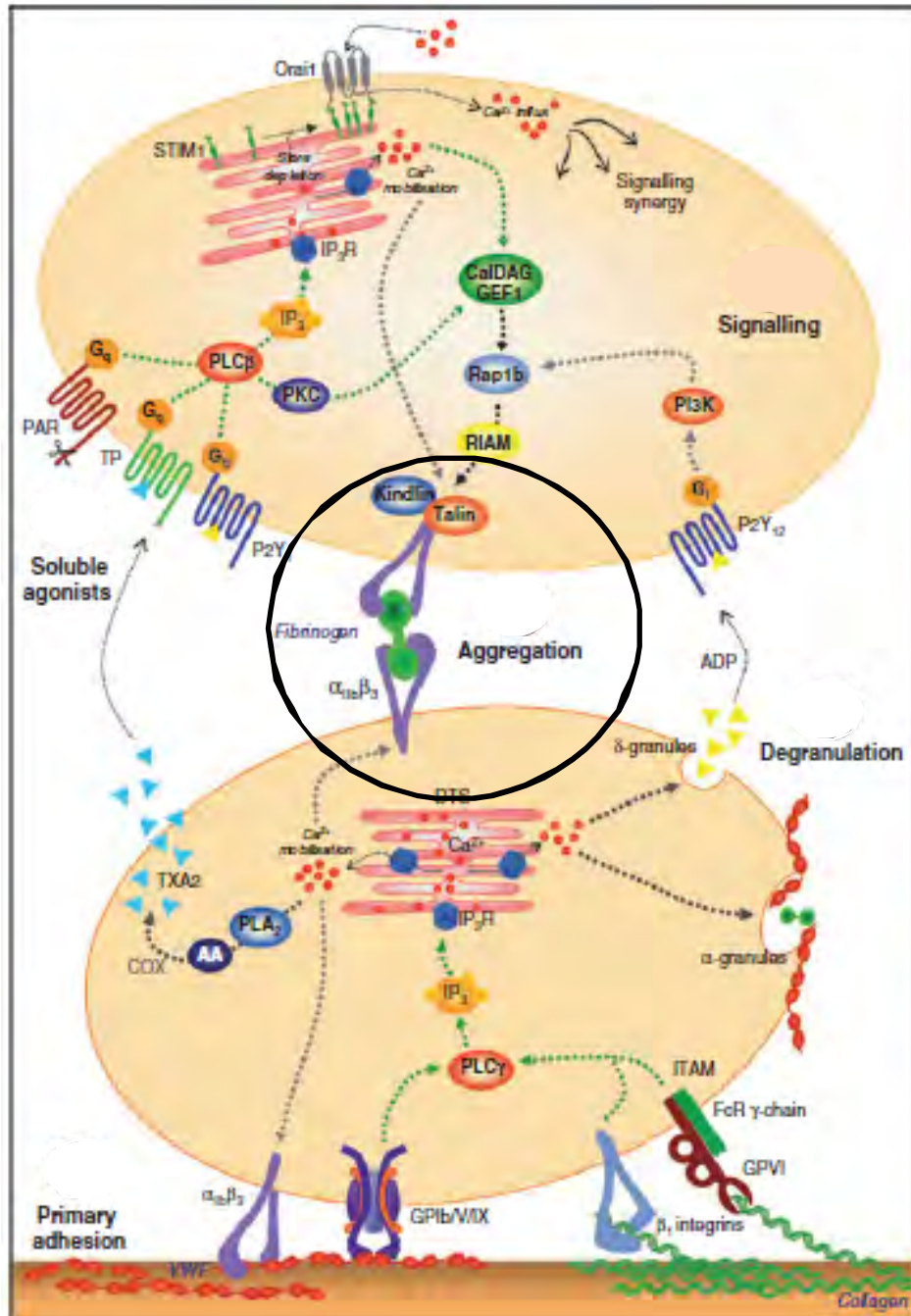
Sécrétion des substances contenues dans les granules.

Expression de la P-sélectine (marqueur d'activation)

Activation GpIIb-IIIa: changement de conformation pour avoir un récepteur de forte affinité pour le fibrinogène

Wei, BJH, 2010

Agrégation



Dépend de Gp IIb-IIIa

Plusieurs voies de signalisation aboutissent au changement de conformation de Gp IIb-IIIa

- mobilisation de Calcium
- signalisation récepteurs à l'ADP
- voie du TXA2

GpIIb-IIIa, une fois activée, est capable de lier le fibrinogène et le vWF.

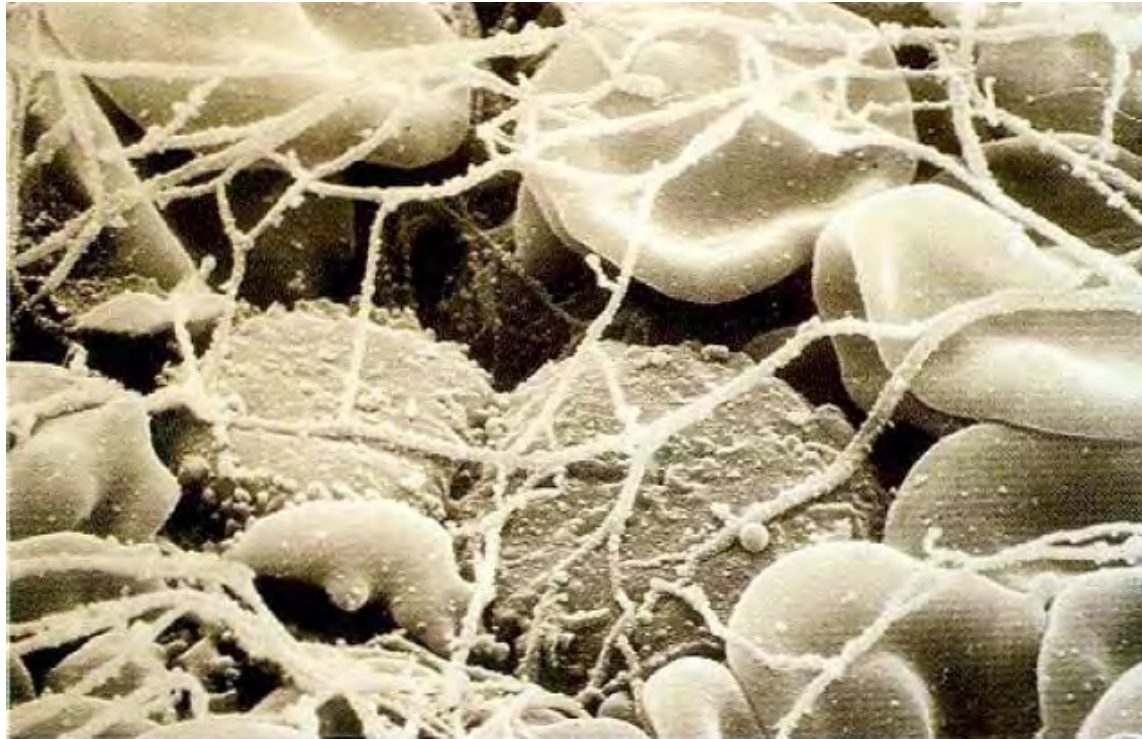
Formation de ponts inter-plaquettaires

Activité pro-coagulante des plaquettes

- Activité minime sur les plaquettes non activées
- L'activation plaquettaire et le mobilisation de calcium intraplaquettaire vont provoquer le retournement de la membrane plasmique des plaquettes
→ expression de PL anioniques à la surface plaquettaire par le phénomène de « flip-flop »

⇒ Apparition de sites de fixation pour les facteurs de la coagulation

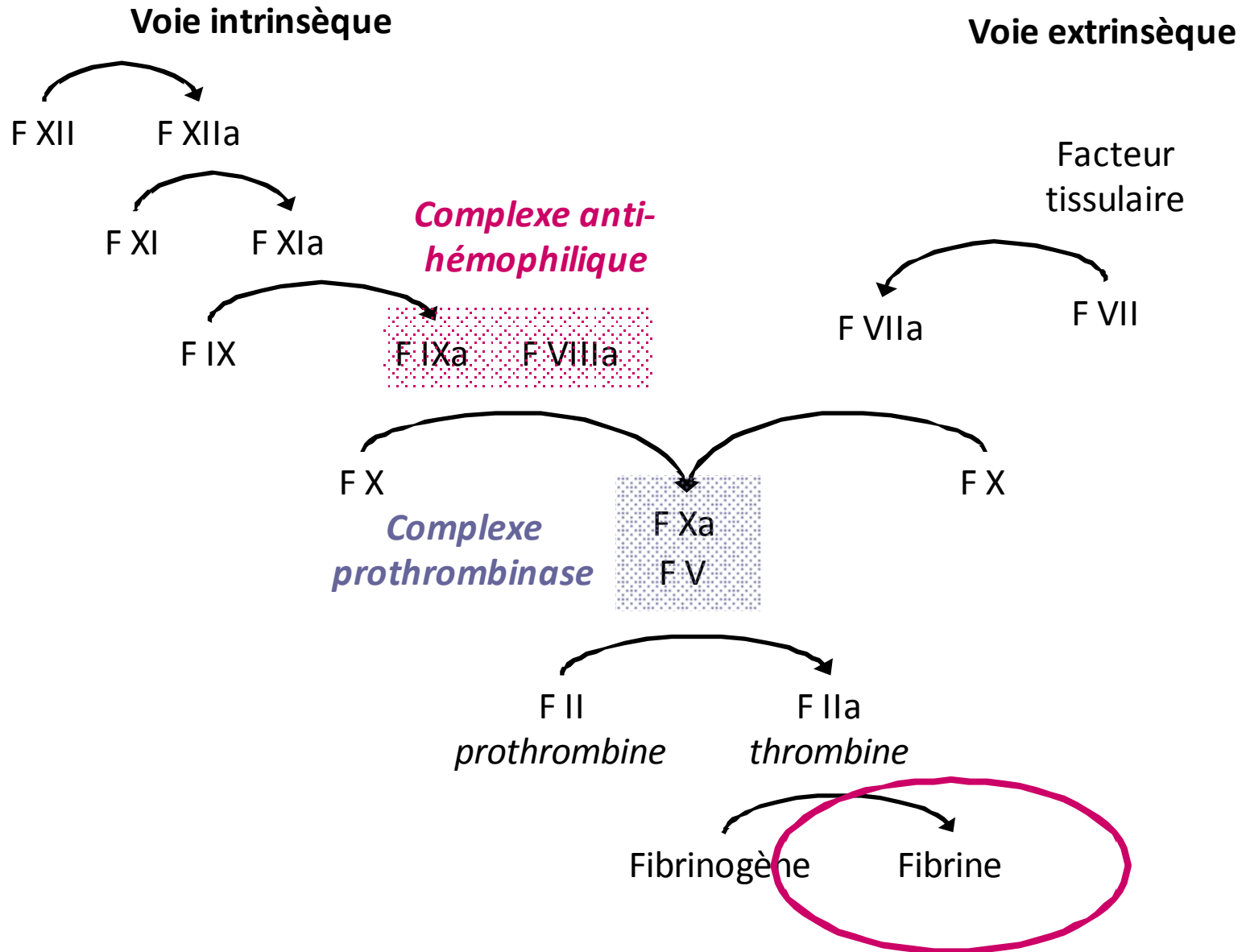
II. La coagulation



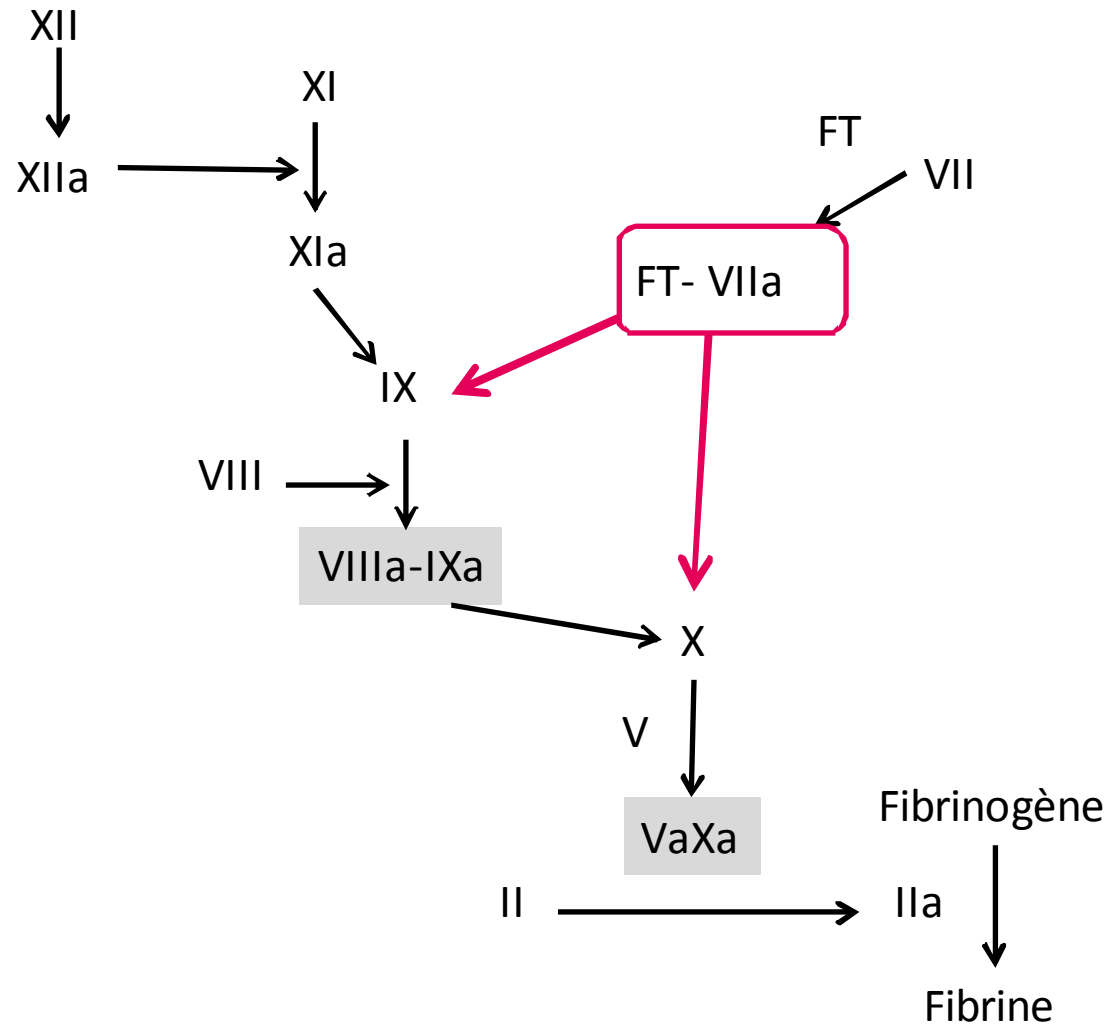
GB, GR et Plq sont enserrés dans les mailles du réseau de **fibrine**

⇒ formation d'un caillot obstruant la brèche vasculaire. **THROMBUS ROUGE**

L'ancienne cascade de la coagulation



La nouvelle cascade de la coagulation



La cascade de la coagulation

- But: générer de la fibrine insoluble
- Série de réactions enzymatiques, à la surface des plaquettes (phospholipides plaquettaires nécessaires aux réactions enzymatiques)
- Réactions enzymatiques transformant les facteurs non activés en facteurs activés.
- Le calcium est nécessaire à la coagulation
- **2 types de facteurs:**
 - Les précurseurs d'enzymes: sérines-protéases
 - Vitamino-K dépendants: II, VII, IX, X
 - Non vitamino-K dépendants: XI, XII, XIII et PK
 - Les co-facteurs
 - V et VIII
 - KHPM: facteur déclenchant de la voie intrinsèque
 - Facteur Tissulaire: facteur déclenchant de la voie extrinsèque

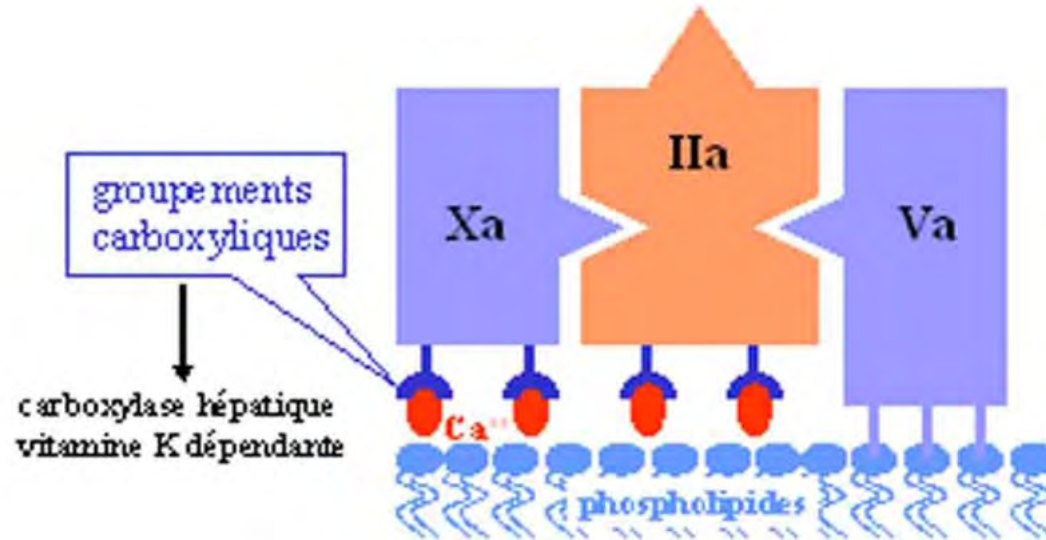
II.a. Les acteurs de la cascade de la coagulation

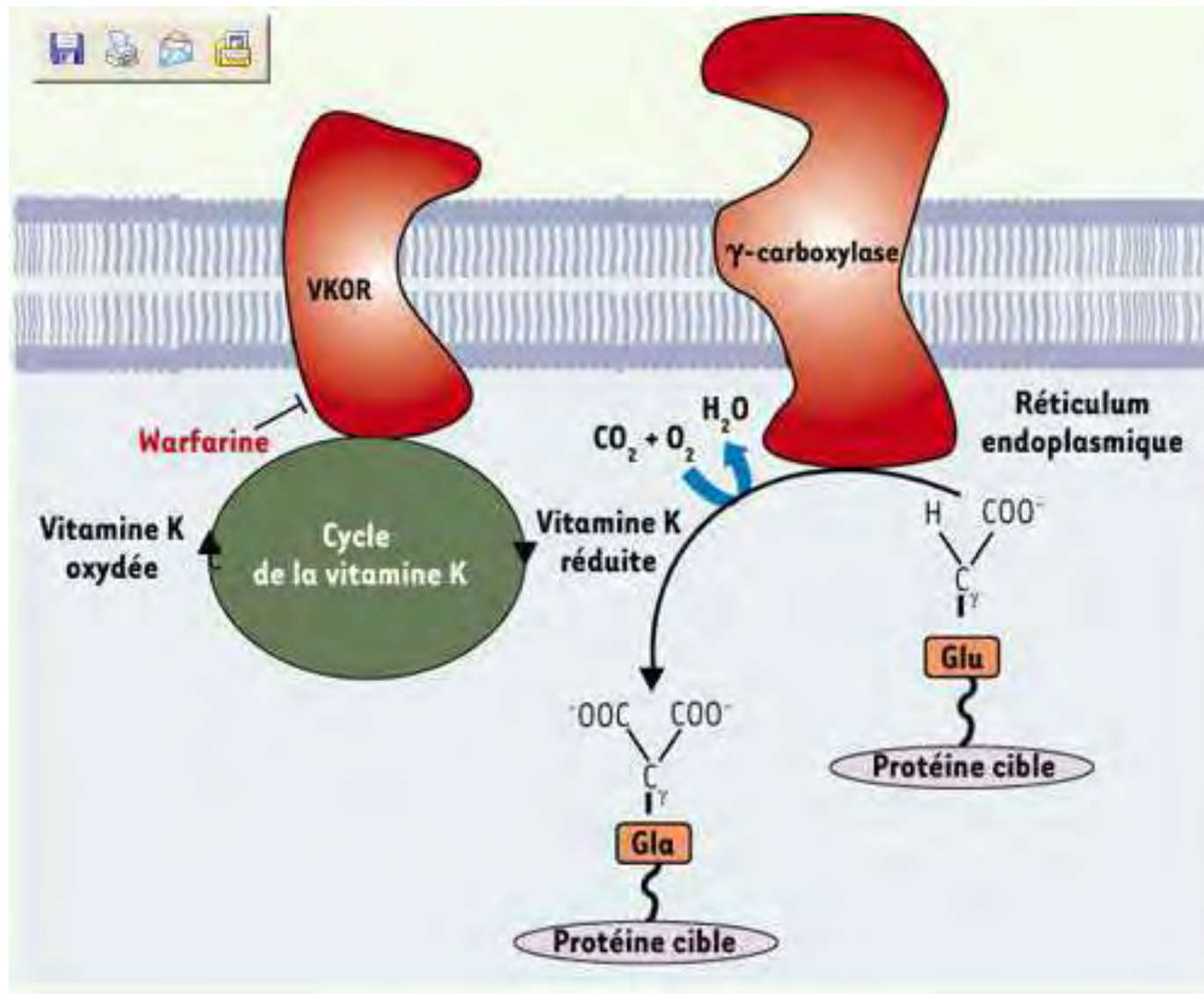
Facteur	Nom	Synthèse	Demi-vie	Taux mini nécessaire*
Facteur I	Fibrinogène	foie	4-6 jours	0,5 à 1 g/l
Facteur II	Prothrombine	foie	3-4 jours	40 %
Facteur V	Proaccélérine	foie	12-36 h	10-15 %
Facteur VII	Proconvertine	foie	4-6 h	5-10 %
Facteur VIII	Anti-hémoph A	foie + poumon + rein	8-16 h	30%
Facteur IX	Anti-hémoph B	foie	24 h	30%
Facteur X	Stuart	foie	1-2 jours	10-20%
Facteur XI	Rosenthal	foie	1-2 jours	non lié au taux
Facteur XII	Hageman	foie + ?	2-3 jours	
Facteur XIII	Stabilisant fibrine	foie	3-7 jours	

* Indication très dépendante du contexte

Les facteurs vitamino-K dépendants II, VII, IX, X

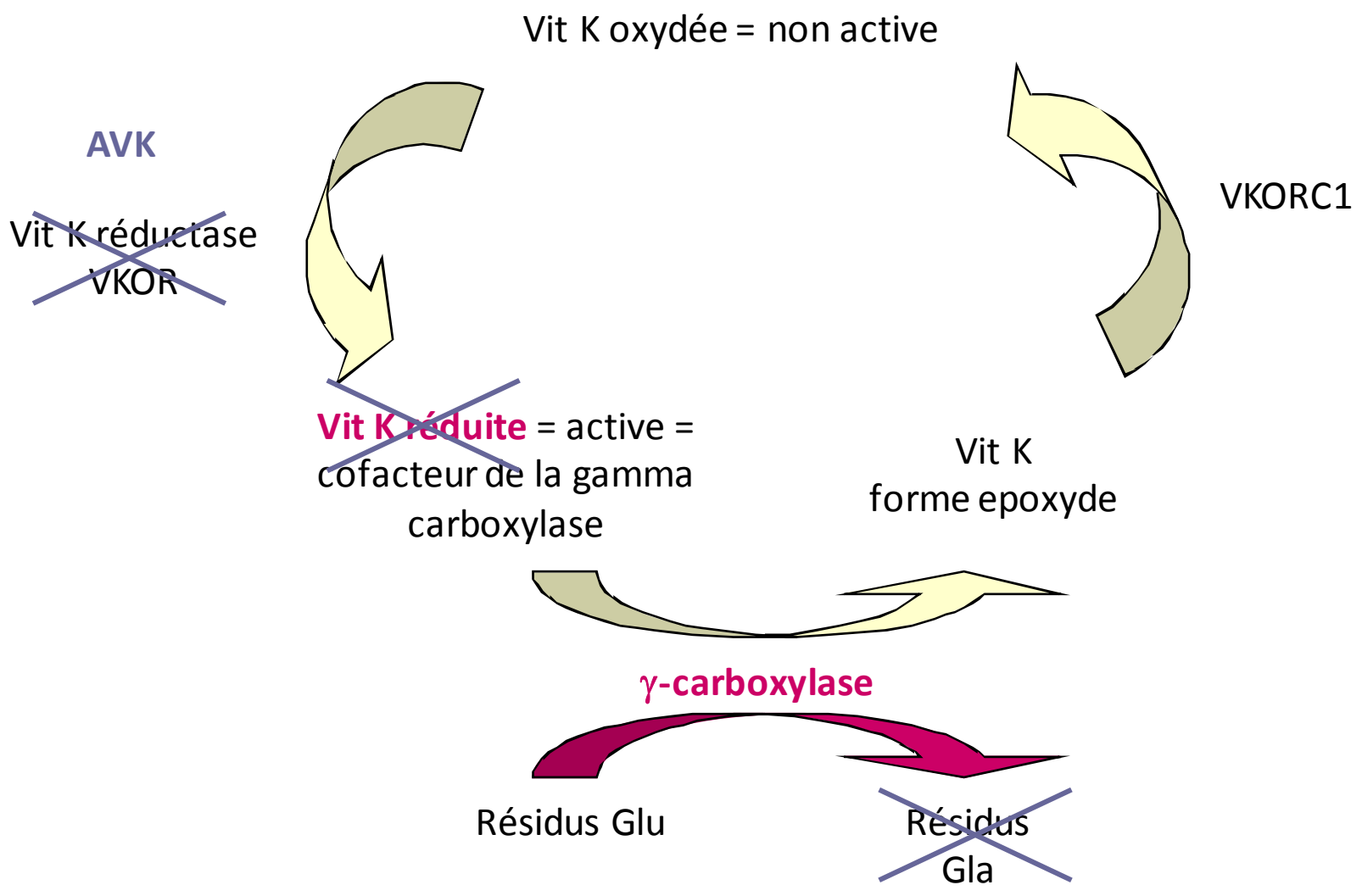
Les facteurs II, VII, IX et X doivent être carboxylés pour se fixer sur les phospholipides et être activés. La gamma carboxylase ayant pour cofacteur la vitamine K (réduite), les facteurs II, VII, IX et X sont vitamino-K dépendants.





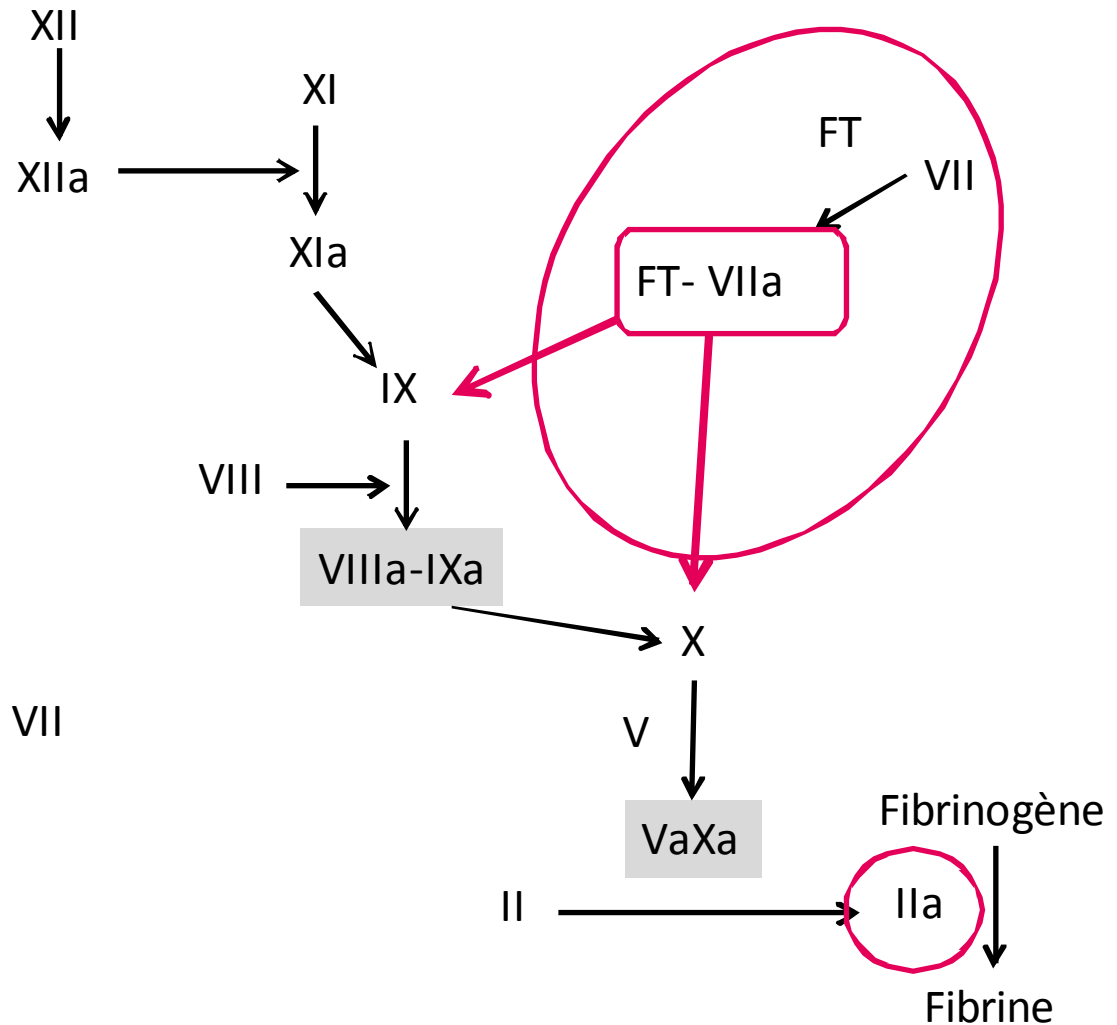
Métabolisme de la vitamine K

Mode d'action des AVK

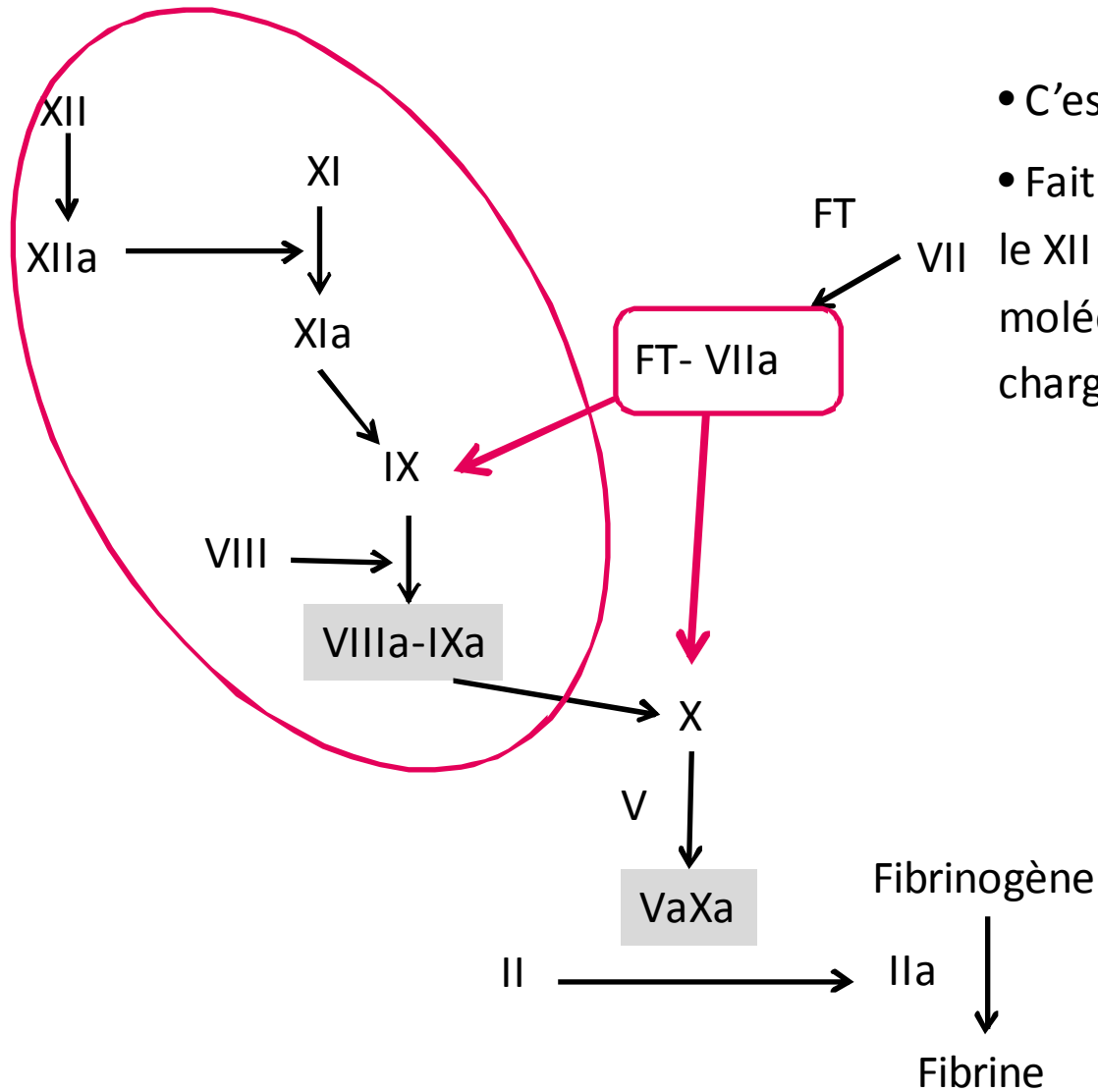


II.b. La voie extrinsèque

- Déclenchement de la coagulation par la mise en contact du sang avec le FACTEUR TISSULAIRE (FT) lors d'une lésion vasculaire.
- FT exprimé par le sous endothélium.
- FT se lie au VII, ce qui active le VII en VIIa, et le complexe FT/FVIIa active le X en Xa

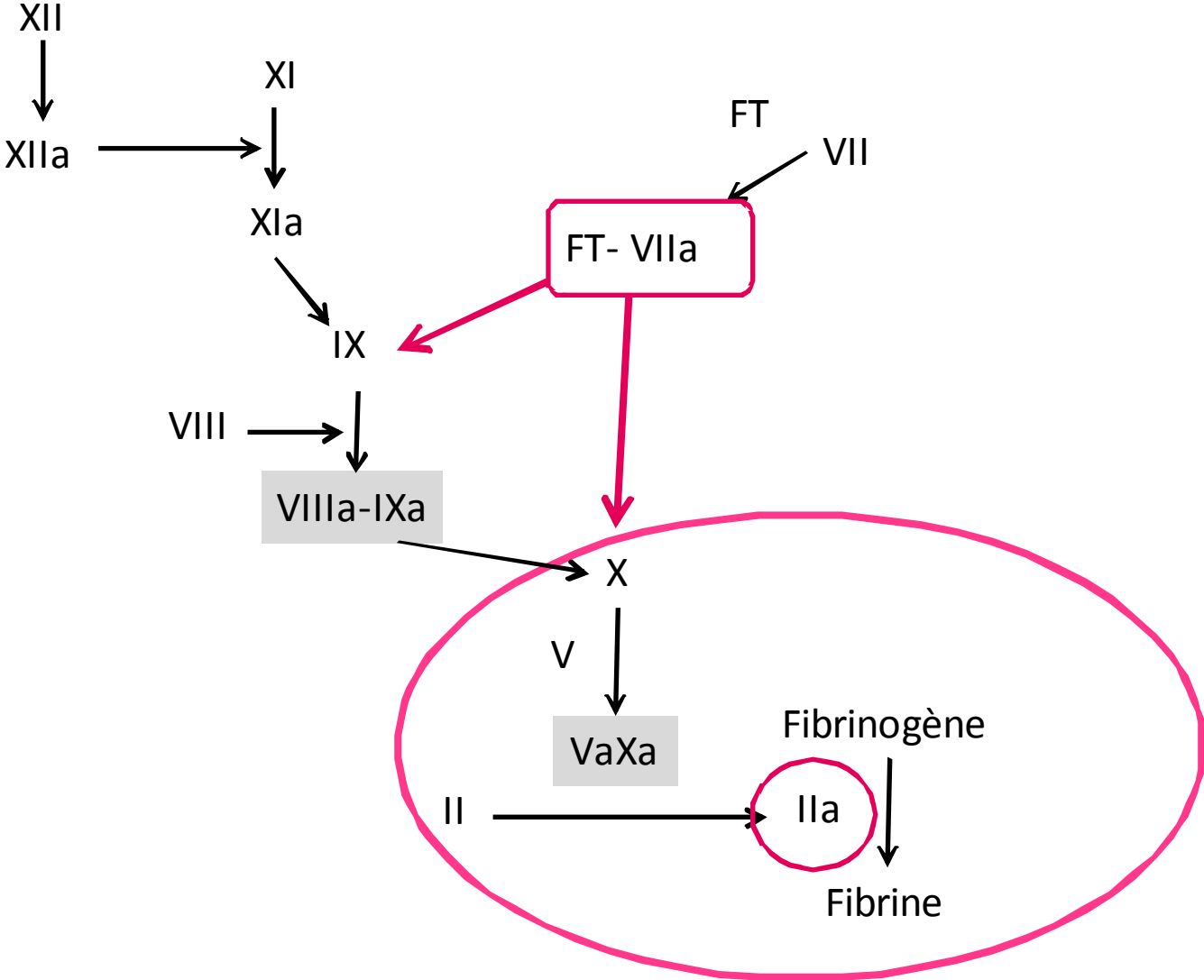


II.c. La voie intrinsèque

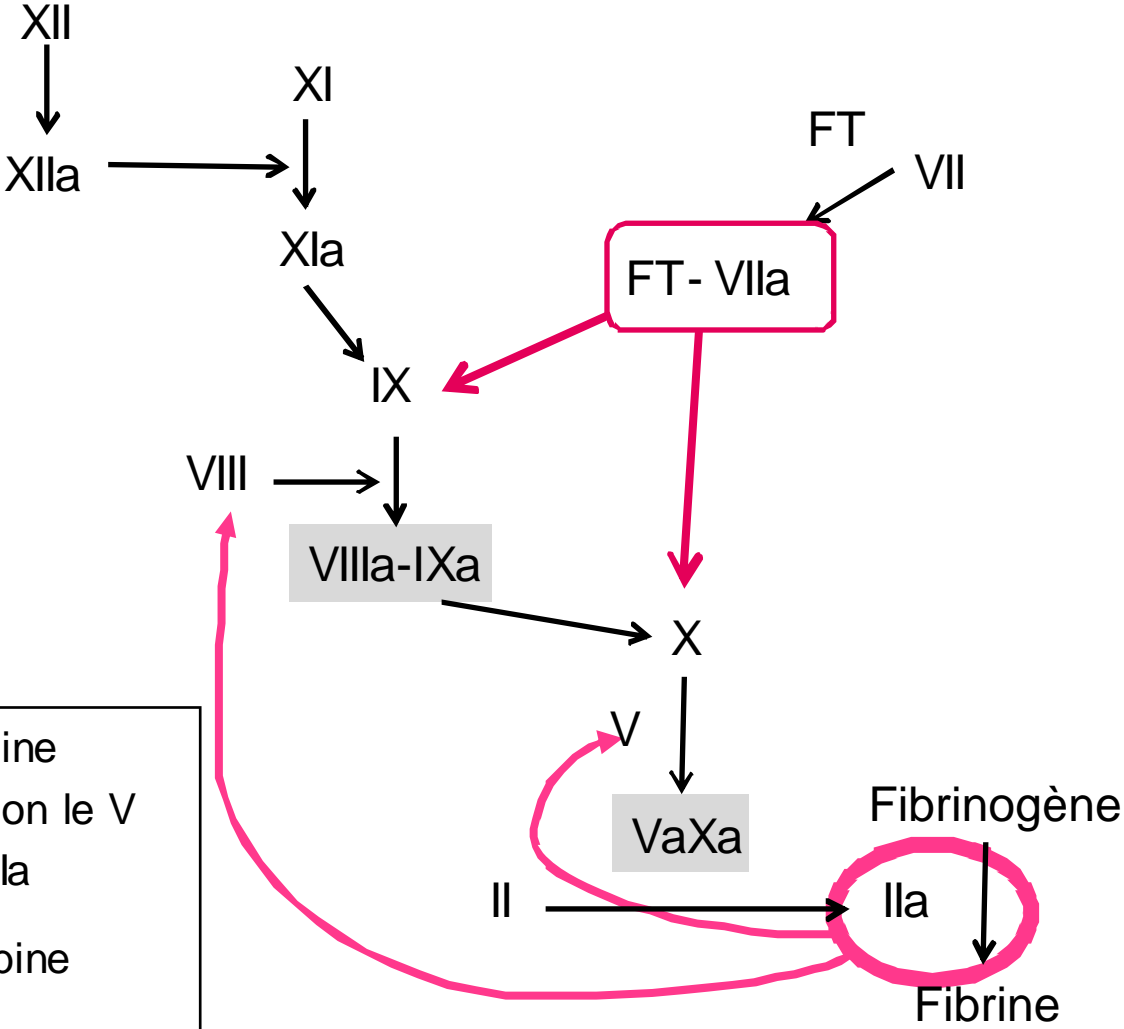


- C'est une voie d'amplification
- Fait intervenir les facteurs **contacts**: le XII et le kininogène de haut poids moléculaire se fixent sur des surfaces chargées électronégativement.

II.d. La voie commune



II.d. La voie commune

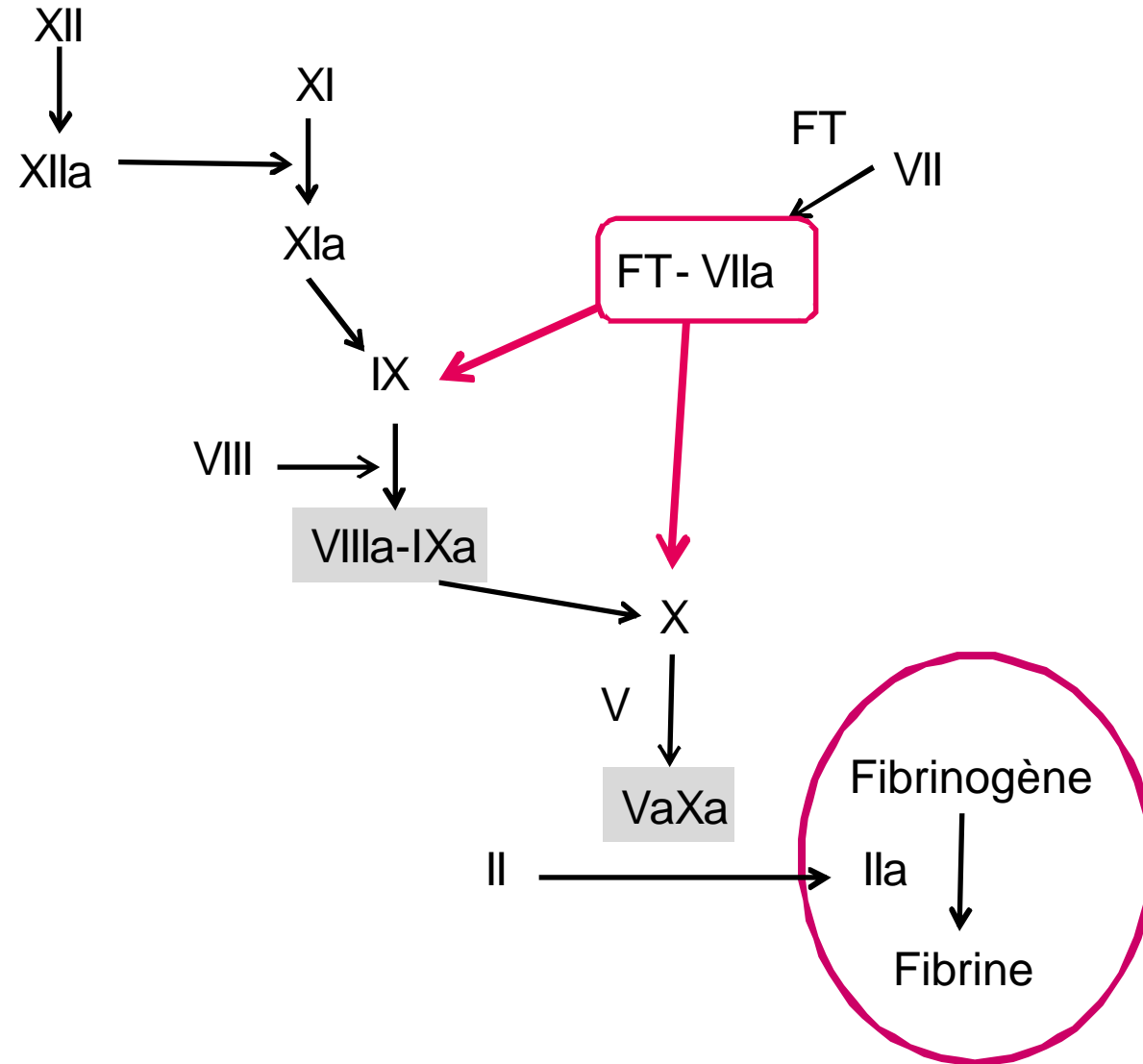


Les traces de thrombine activent, par rétroaction le V en Va et le VIII en VIIIa
Génération de thrombine amplifiée

Le phénomène d'activation de la coagulation reste **localisé**:

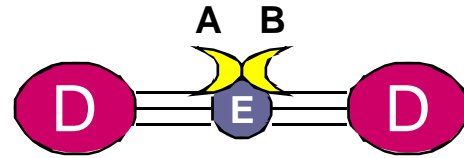
- seules les plaquettes et les cellules endothéliales servent de support à l'activation des facteurs (phospholipides, calcium, facteur tissulaire)
- Il existe des mécanismes permettant de limiter l'extension du thrombus

II.e. La fibrino formation

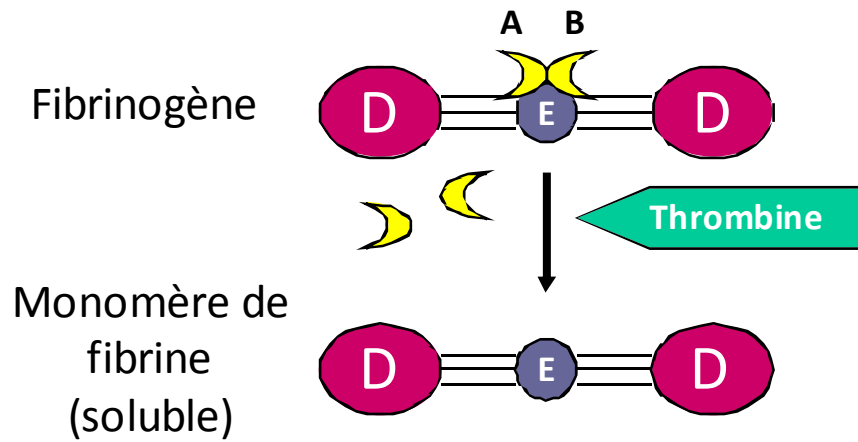


Mécanismes de la fibrino formation

Fibrinogène

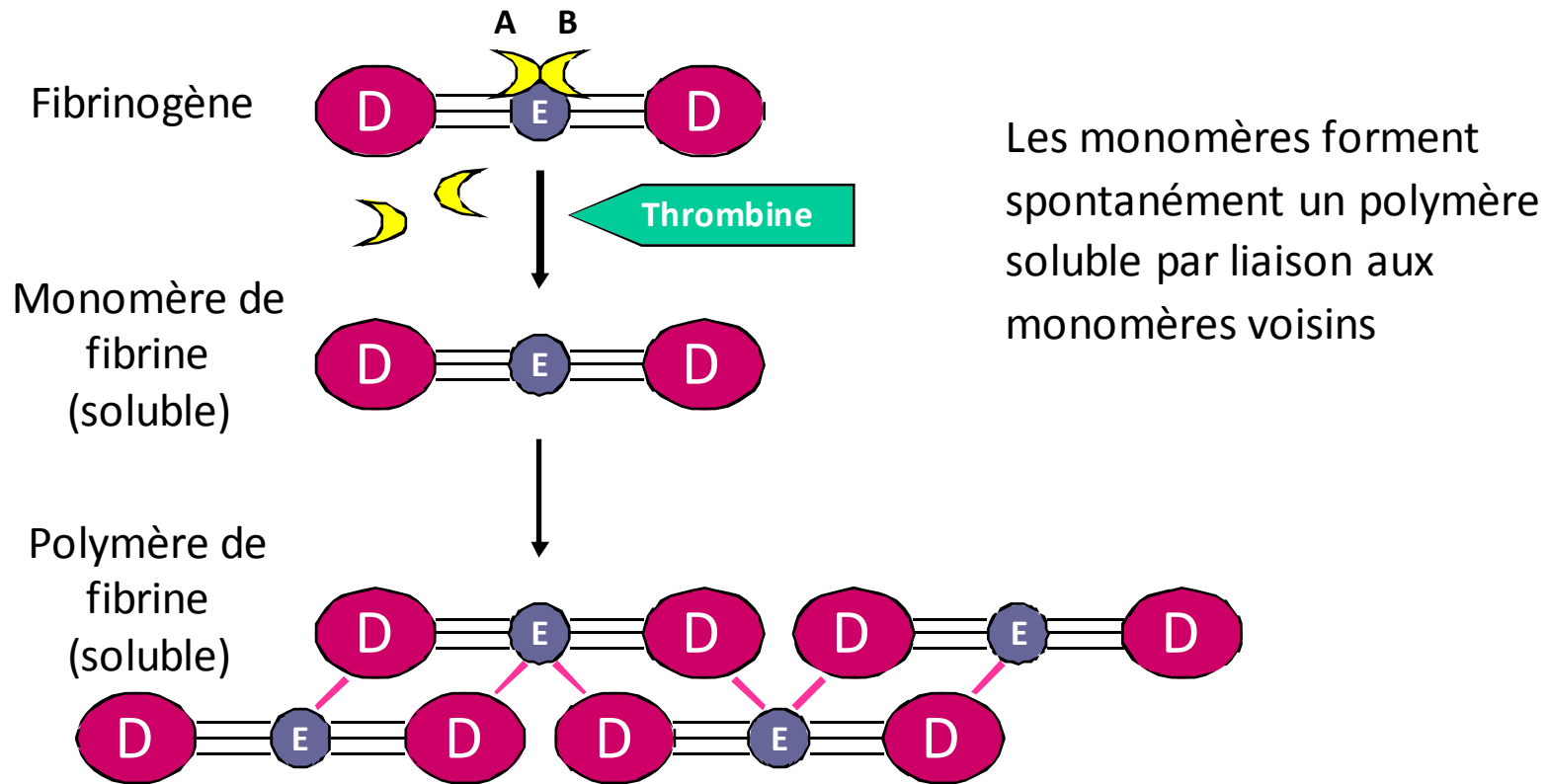


Mécanismes de la fibrino formation

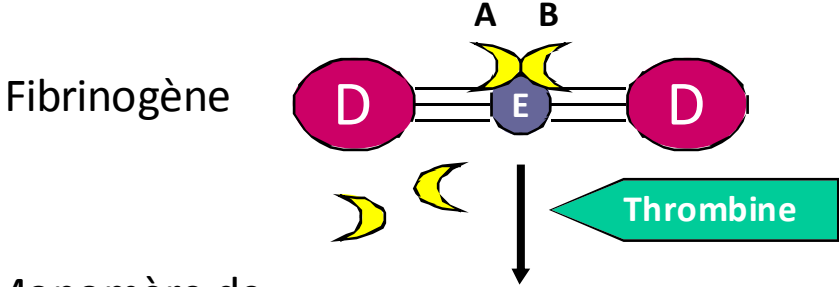


La thrombine détache les
fibrinopeptides A et B du
fibrinogène

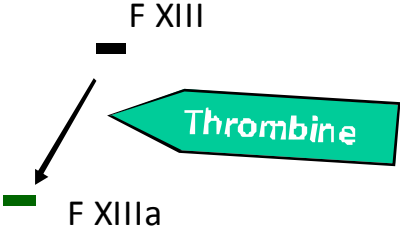
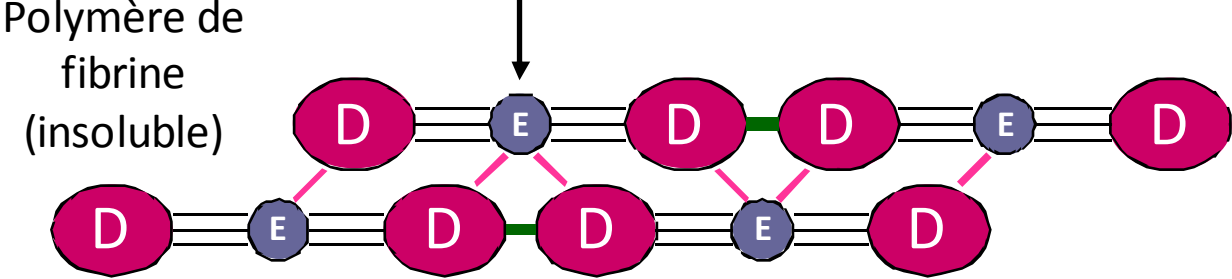
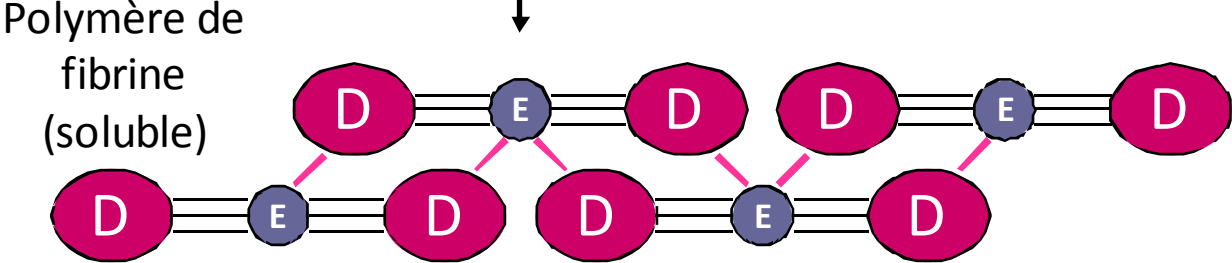
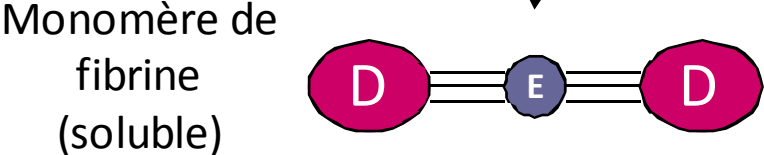
Mécanismes de la fibrino formation



Mécanismes de la fibrino formation



La thrombine active le F XIII et le F XIIIa stabilise le polymère soluble en formant des liaisons covalentes entre les monomères voisins.



II.f. Régulation de la coagulation

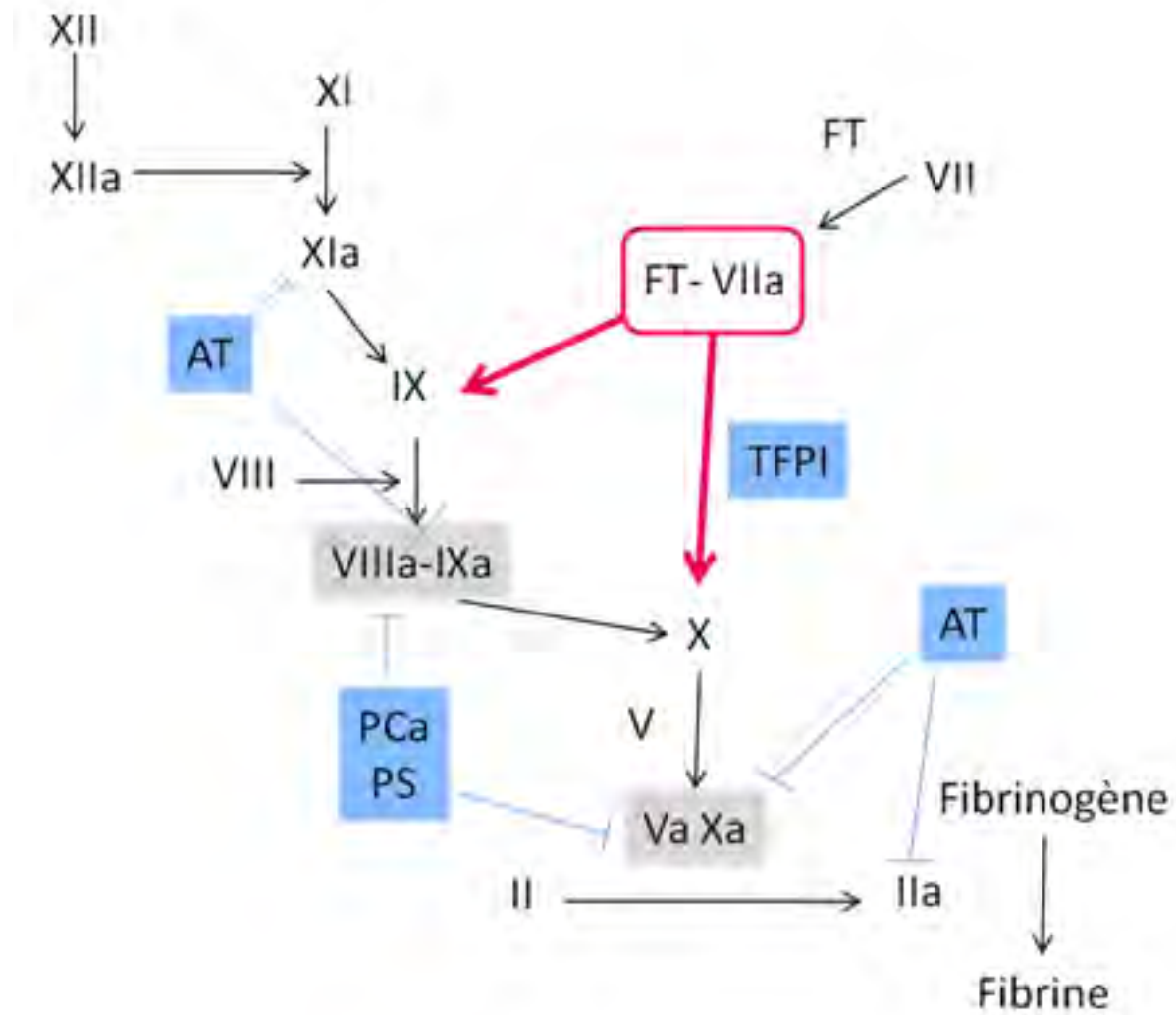
La coagulation doit restée localisée au site de la blessure vasculaire

Les protéines actives de la coagulation ne doivent pas circuler dans la plasma, sinon risque d'activation diffuse de la coagulation.

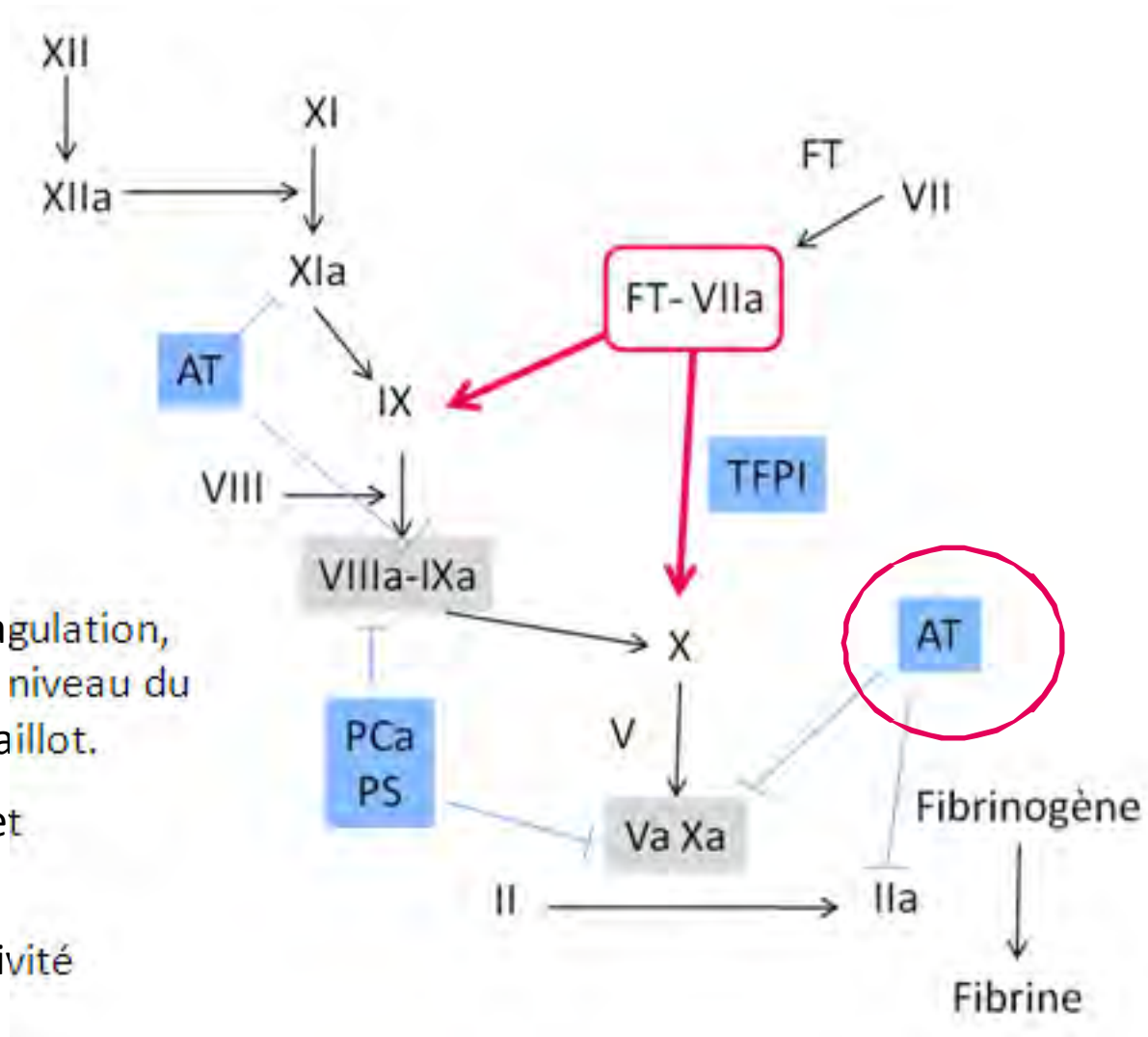
Régulation par les systèmes inhibiteurs de la coagulation:

- Antithrombine (inhibe surtout la thrombine)
- Système de la protéine C: thrombomoduline, protéine C, protéine S
- TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor)

Les inhibiteurs de la coagulation



L'antithrombine

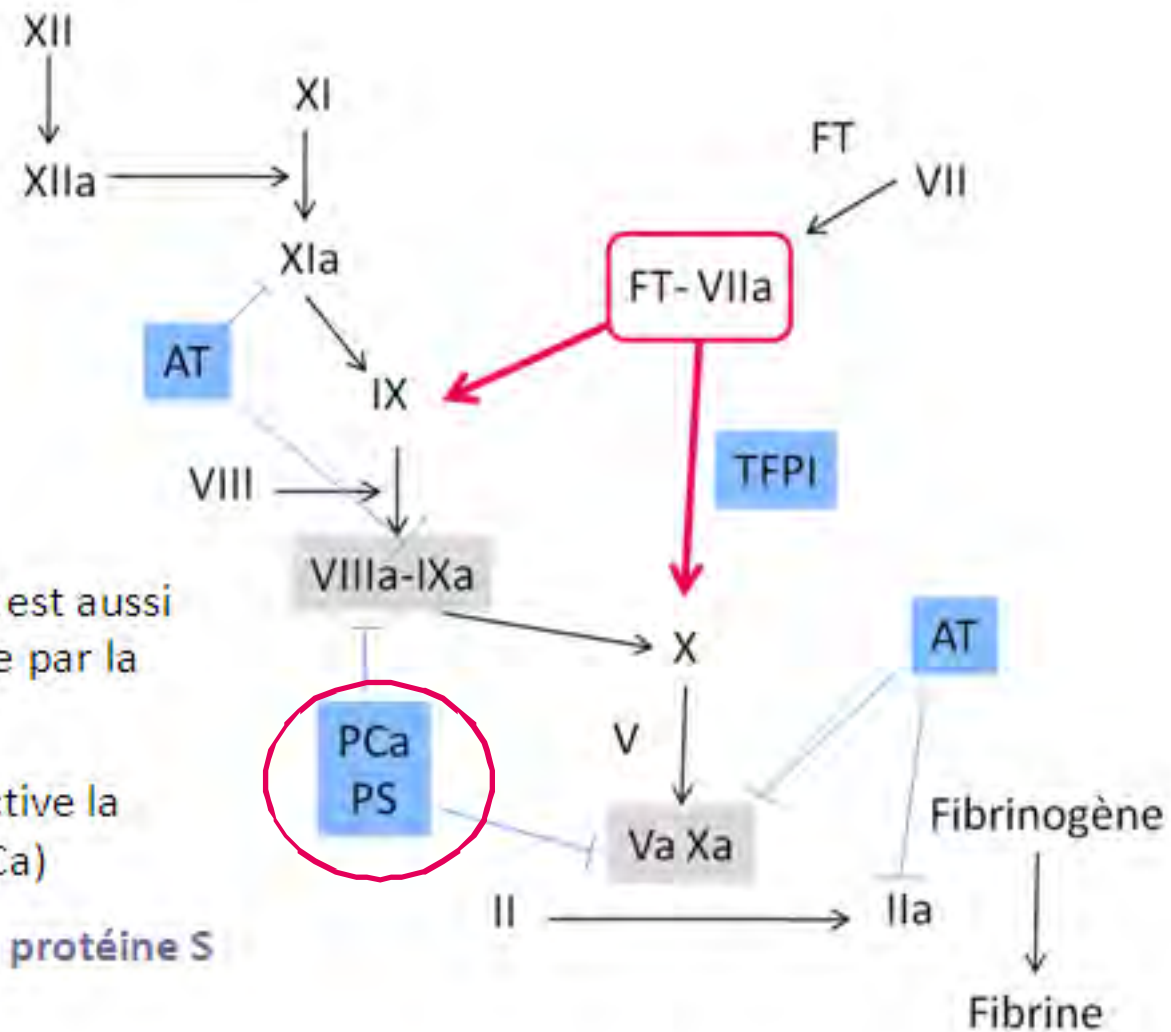


Lors de l'activation de la coagulation, de la thrombine générée au niveau du caillot peut s'échapper du caillot.

L'AT capte cette thrombine et l'inactive.

Héparines augmentent l'activité inhibitrice de l'AT

Le système de la protéine C



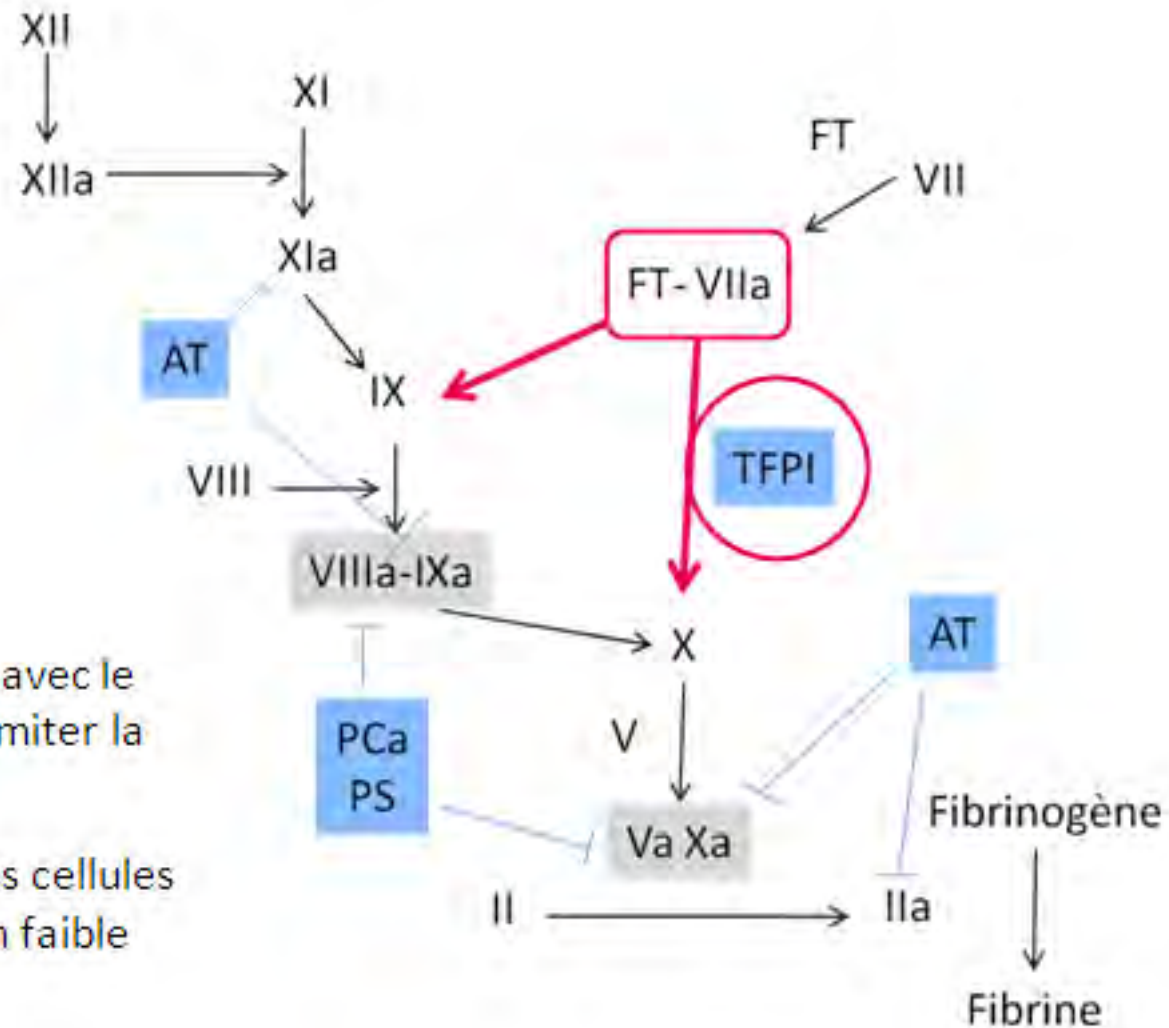
La thrombine libérée du caillot est aussi captée à la surface endothéliale par la **thrombomoduline (TM)**.

Le complexe Thrombine/TM active la **protéine C** en protC activée (PCa)

La PCa se lie à son cofacteur, la **protéine S** et inhibe le Va et le VIIIa.

PC et PS sont vitamino-K dépendantes

Le TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor)



Le **TFPI** forme un complexe avec le FT, le FVIIa et le FXa, pour limiter la génération de FXa.

Le TFPI est synthétisé par les cellules endothéliales et il circule en faible quantité dans le plasma.

III. La fibrinolyse

- Le caillot doit disparaître une fois que le vaisseau est cicatrisé.
- Le système fibrinolytique a pour rôle de détruire le caillot: la **plasmine** est l'enzyme capable de protéolyser la fibrine

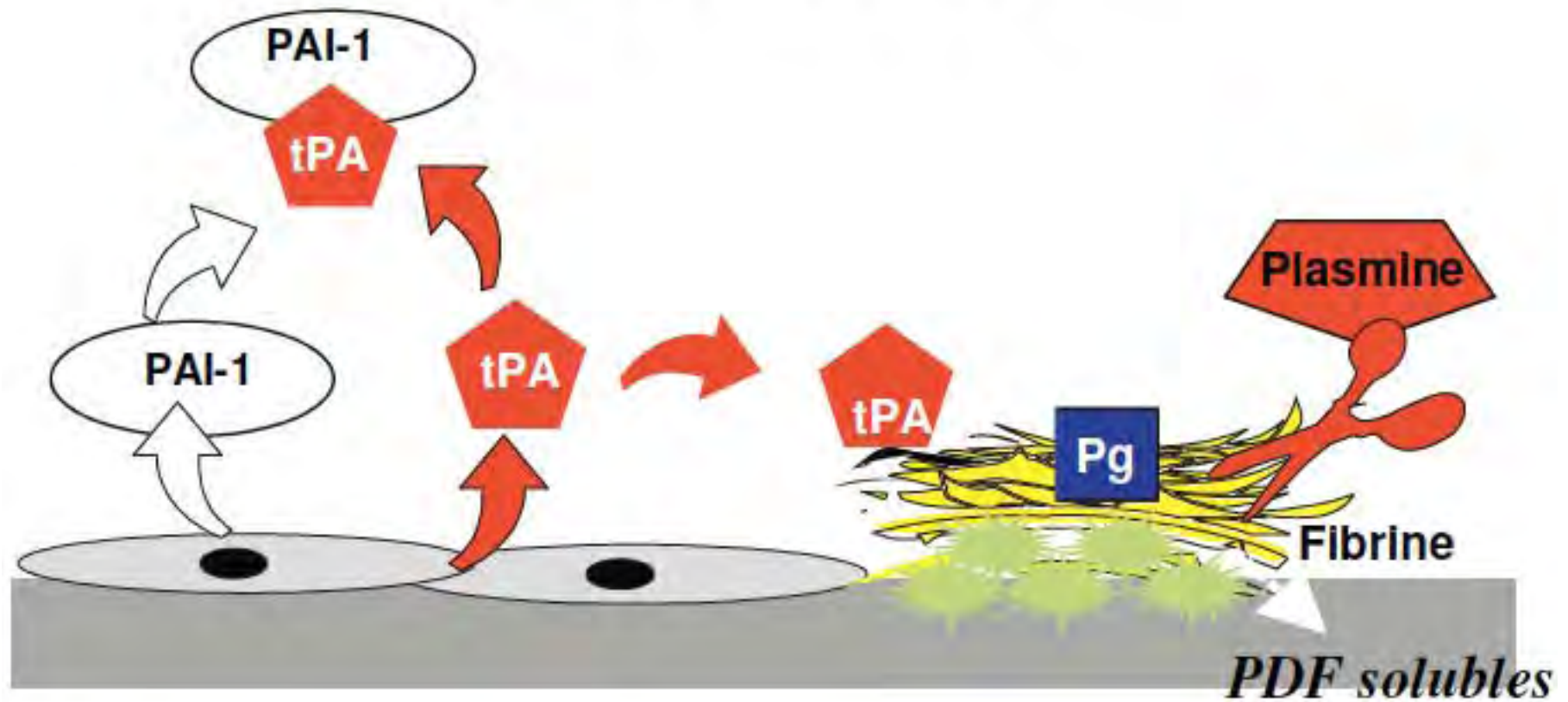


Les acteurs de la fibrinolyse

- Des systèmes **activateurs** de la fibrinolyse : en phase solide (sur le caillot)
 - Support: fibrine (phase solide, support du caillot hémostatique)
 - Plasminogène lié à la fibrine
 - 2 principaux activateurs du plasminogène:
 - **t-PA: Activateur tissulaire du plasminogène**
 - u-PA: urokinase
- Des **inhibiteurs**: système en phase liquide (dans le sang circulant)
 - Alpha 2 antiplasmine (inhibiteur spécifique de la plasmine)
 - PAI-1: inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1

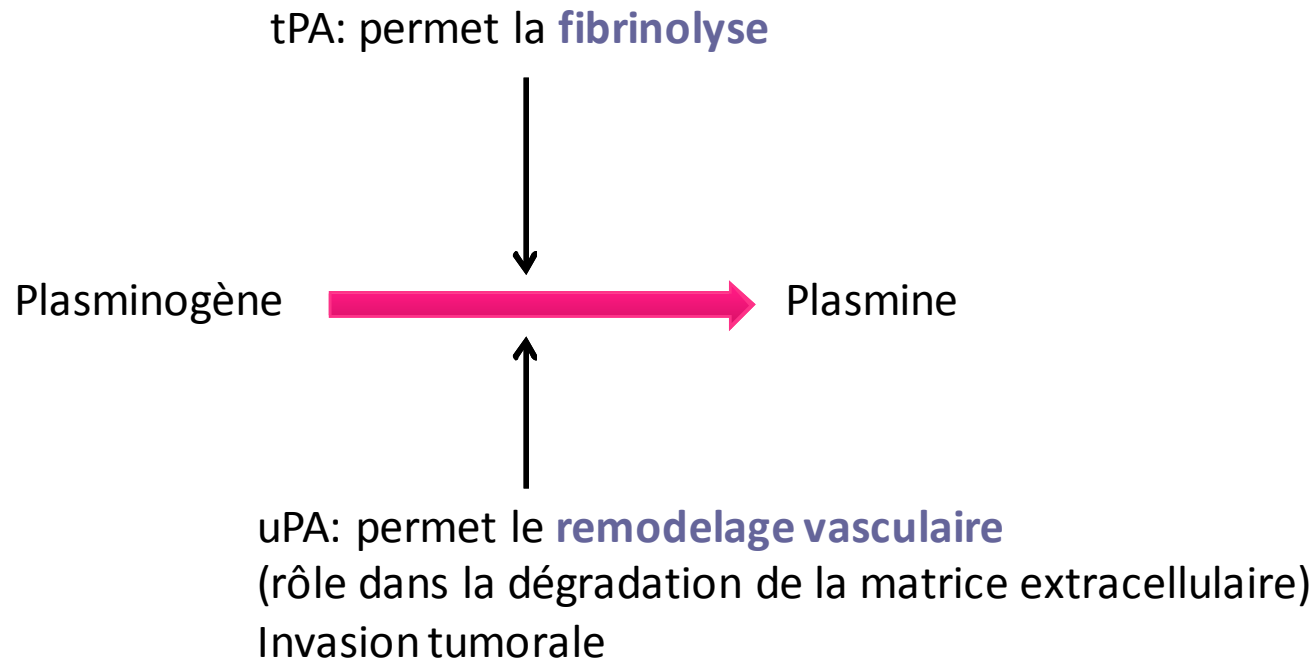
Le système plasminogène-plasmine

Digestion de la fibrine



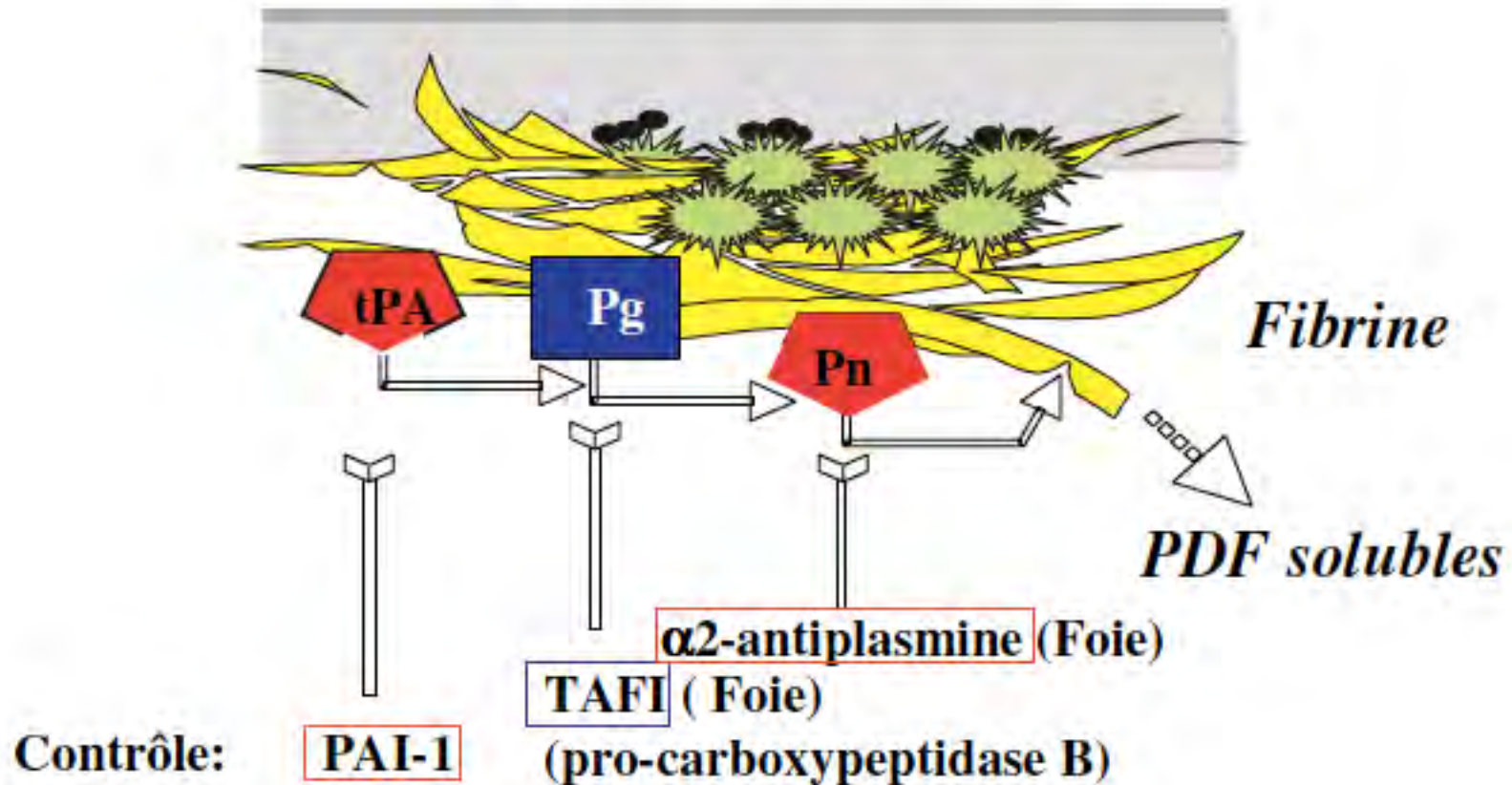
2 voies d'activation du plasminogène

En physiologie

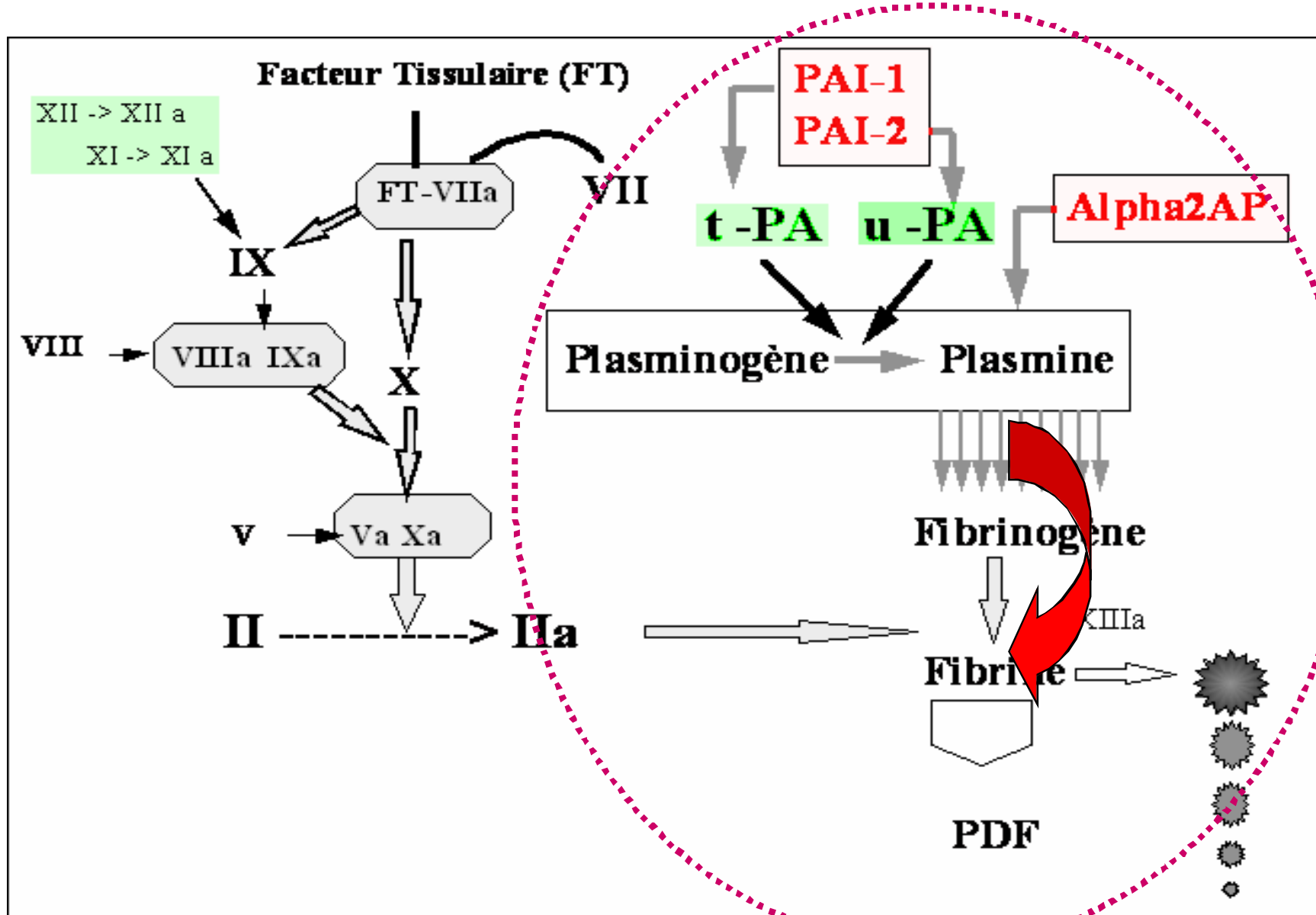


Le système plasminogène-plasmine

Régulation de la fibrinolyse



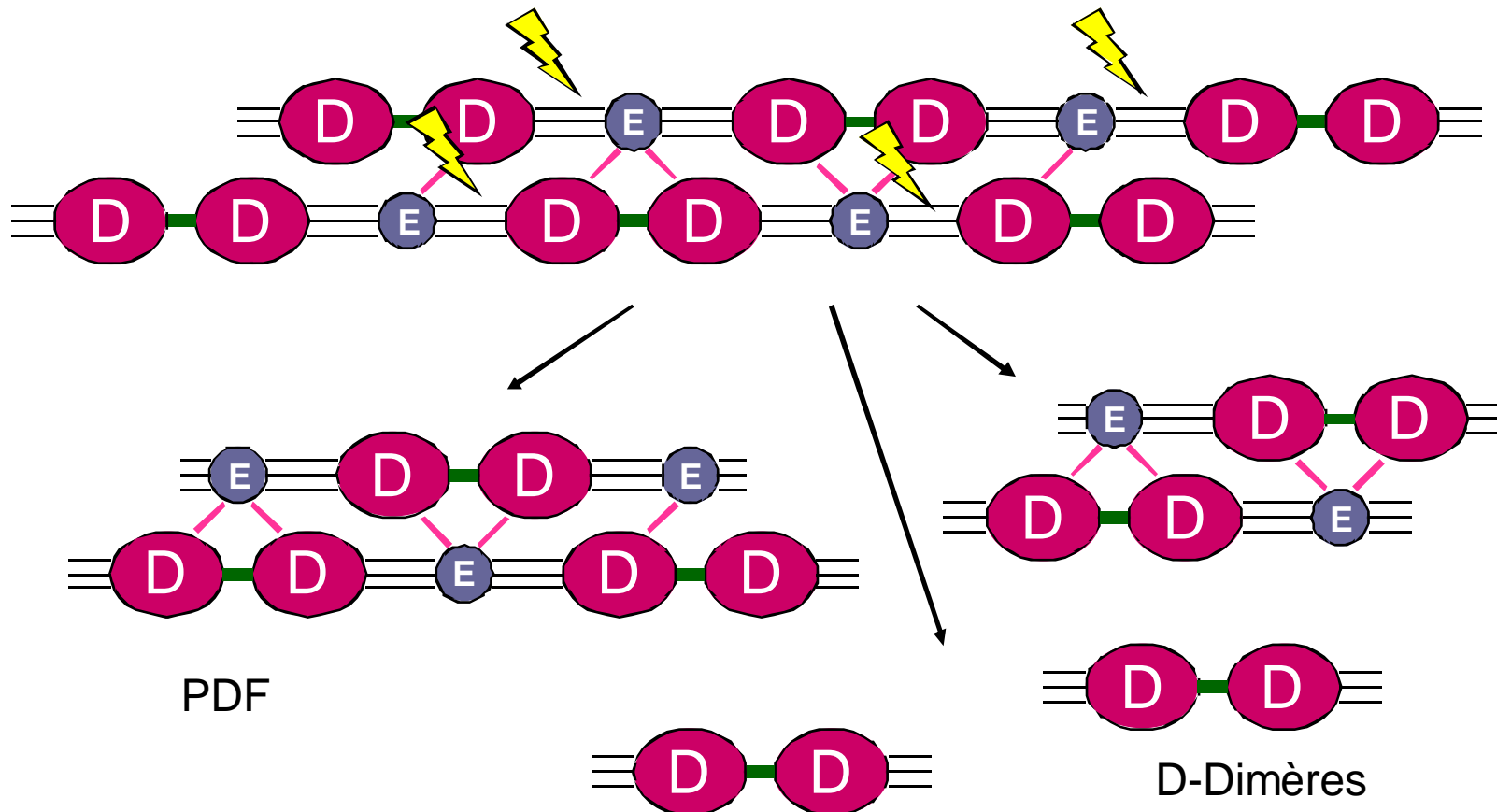
La fibrinolyse



Comment agit la plasmine?



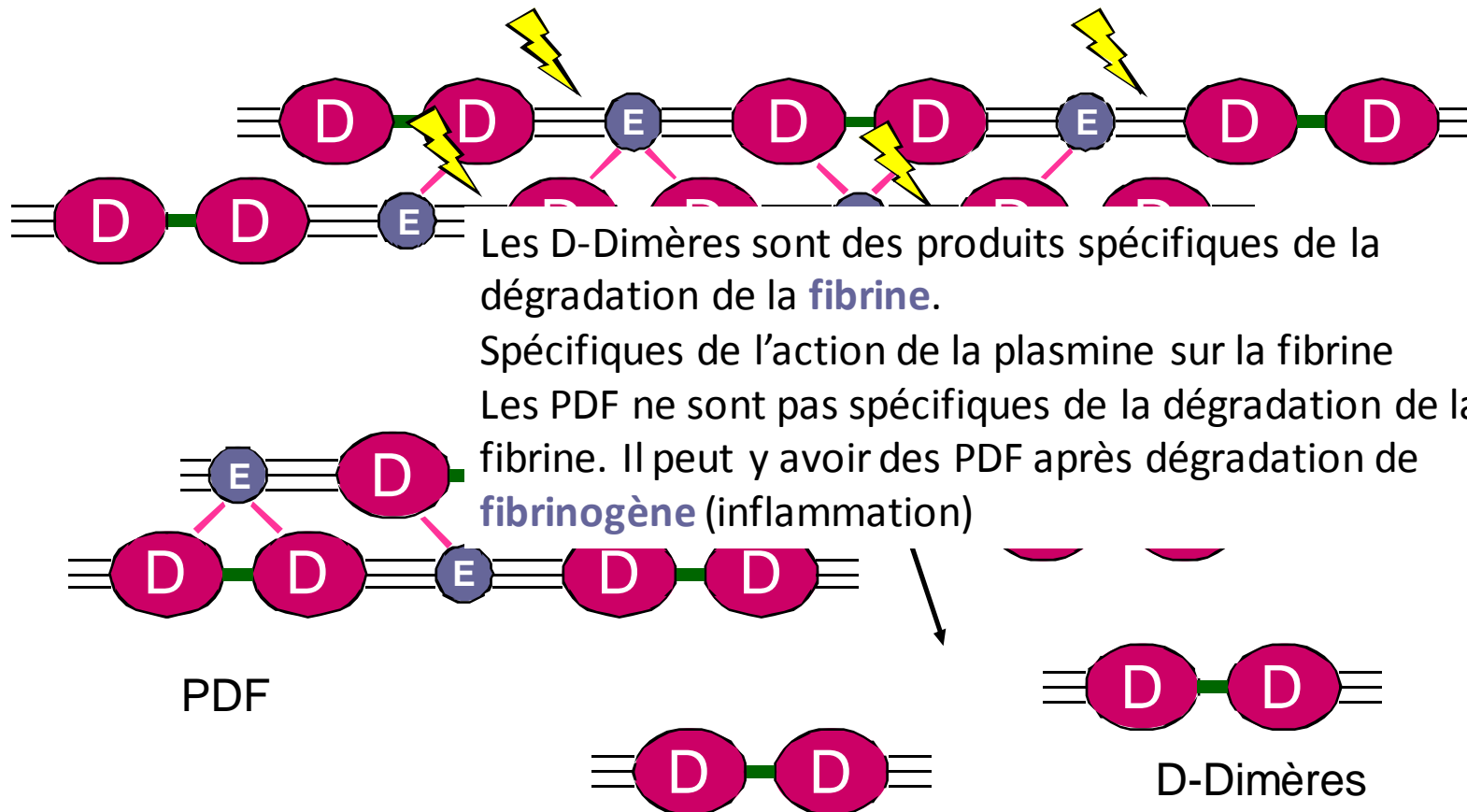
- Sérine protéase
- Formée à la surface de la fibrine.
- Dégrade la fibrine en rompant les ponts peptidiques et en dégradant les liaisons plus lâches situées entre les domaines D et E.



Comment agit la plasmine?



- Sérine protéase
- Formée à la surface de la fibrine.
- Dégrade la fibrine en rompant les ponts peptidiques et en dégradant les liaisons plus lâches situées entre les domaines D et E.



L'hémostase, un équilibre fragile

Exemple de la thrombine qui est capable d'activer et d'inhiber l'hémostase

- Active l'hémostase
 - Puissant agrégant plaquettaire
 - Active le V et le VIII
 - Fibrinof ormation et activation du XIII qui stabilise la fibrine
- Inhibe l'hémostase
 - Se fixe à la thrombomoduline et active la protéine C

Un déséquilibre de l'hémostase conduit à l'hémorragie ou la thrombose

- **Hémorragie**

- Défaut hémostase primaire
 - Thrombopathie
 - Thrombopénie
- Coagulopathie: absence d'1 ou + facteurs
- Excès fibrinolyse
 - Excès activation
 - Défaut inhibiteurs

- **Thrombose**

- Activation excessive coagulation
(cf déficit en inhibiteur de la coagulation)
- Excès de facteurs (VIII)