



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

L'étude des facteurs de la coagulation sanguine.

Présenté et soutenu par : GUEZOUL ZAKARIA

Soutenu Le : 30/06/2015

ALI SENOUSI MOHAMEDE

Jury d'évaluation :

- **Président du jury :** NECIBE Youcef. (Pr - UFM Constantine).
- **Rapporteur :** NOUADRI Tahar. (MCA- UFM Constantine).
- **Examineurs :** KHEDARA Abdelkrim (MCA- UFM Constantine).

Année universitaire 2014 - 2015

REMERCIEMENT

Nous avons le plaisir d'exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur Mr. NOUADRI Tahar. Docteur à l'Université les frères mentouri pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce travail.

Merci encore Mr. NOUADRI Tahar.

Un grand merci à Mr. NECIB Yousef. Professeur à l'Université les frères mentouri pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce Jury.

Nos profonds remerciements vont aussi à Mr. Khedara Abedlkrim. Docteur à l'Université les frères mentouri, pour avoir acceptée d'examiner ce travail.

Enfin, nous remercions toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Un merci spécial à ma mère pour son intarissable amour, sans toi je ne serais jamais arrivée, ce diplôme, et pour sa tendresse et son sacrifice,

Je dédie ce travail à mon père SLIMANE

A mes frères

*ALI LAZHAR, ZINE ADINE, FAYCEL, BELHAGE, MOUNIRE,
SALEH, OUMARE, SALIHA.*

Pour leur encouragement et leur compréhension

Ma famille

GUEZOUL et ces enfants, CHEKKEL AFFARI et ces enfants

A toutes la famille

A Mes amies

Saleh, Chaouki, Abdel Monaim, Mouhamed, Yassin, Imade Adine ,

Azize, Oussama, Djamel, Houssin, Naime, Farouk

Maya, Roumaissa, Ranya, Randa, Ibtessam, Manel

Amina ,a toute mes amis.

Et Finalement à toute de la promotion de 2014/2015

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|-----------|
| FIGURE..... | |
| TABLEAUX..... | |
| ABREVIATIONS..... | |
| INTRODUCTION..... | 1 |
| I. Physiologie de l'hémostase | 3 |
| I. 1. L'hémostase primaire..... | 3 |
| I. 1. 1. Eléments intervenant dans l'hémostase primaire..... | 4 |
| I. 1. 1. 1. Les Cellules endothéliales..... | 4 |
| I. 1. 1. 2. Les Plaquettes..... | 6 |
| I. 1. 1. 3. Facteur de Von Willebrand..... | 9 |
| I. 1. 2. Temps vasculaire..... | 10 |
| I. 1.3. Temps plaquettaire..... | 12 |
| I. 2. Physiopathologie de l'hémostase primaire | 14 |
| I. 2. 1. trouble de l'hémostase primaire | 14 |
| I. 2. 2. maladie de von willebrand..... | 15 |
| II. La coagulation ou phase plasmatique | 16 |
| II. 1. Les différents facteurs de la coagulation | 16 |
| II. 1. 1. Facteur I..... | 17 |
| ▪ Fibrinogène..... | 17 |
| ▪ Fibrine..... | 18 |
| II. 1. 2. Facteur II..... | 19 |
| ▪ Prothrombine..... | 19 |
| ▪ Facteurs procoagulants : Thrombine..... | 19 |
| II. 1. 3. Facteur III | 20 |
| II. 1. 4. Facteur IV..... | 21 |
| II. 1. 5. Facteur V..... | 21 |
| II. 1. 6. Facteur VI..... | 22 |

| | |
|--|----|
| II. 1. 7. Facteur VII..... | 22 |
| II. 1. 8. Facteur VIII..... | 22 |
| II. 1. 9. Facteur IX..... | 23 |
| II. 1. 10. Facteur X..... | 23 |
| II. 1. 11. Facteur XI | 24 |
| II. 1. 12. Facteur XII..... | 24 |
| II. 1. 13. Facteur XIII..... | 24 |
| II. 1. 14. Prékallieréine..... | 25 |
| II. 1. 15. Autres acteurs intervenant dans la coagulation..... | 25 |
| a. Facteurs permettant la coagulation | 25 |
| b. Les facteurs anticoagulants ou Inhibiteurs de la coagulation..... | 26 |
| ❖ Antithrombine III..... | 26 |
| ❖ Héparine..... | 26 |
| ❖ Protéine C | 26 |
| ❖ Protéine S..... | 27 |
| c. La vitamine k..... | 28 |
| d. L'antivitamine k ou AVK..... | 31 |
| II. 2. Les différentes étapes de la coagulation..... | 33 |
| II. 2. 1. La voie intrinsèque de la coagulation..... | 33 |
| II. 2. 2. La voie extrinsèque de la coagulation..... | 34 |
| II. 2. 3. La voie commune de la coagulation..... | 35 |
| II.3. La fibrinolyse..... | 37 |
| II.4. Physiopathologie..... | 38 |
| II.4.1 troubles de la coagulation | 38 |
| II.4.1.1. maladies de la voie intrinsèque..... | 38 |
| II.4.1.2. maladies de la voie extrinsèque..... | 39 |

| | |
|---|-----------|
| III. LES MÉCANISMES DE LA COAGULATION..... | 40 |
| III .1. LES FACTEURS DE LA COAGULATION..... | 40 |
| III .1. 1. Caractéristiques..... | 40 |
| III .1. 2. Mode de synthèse..... | 41 |
| III .1. 3. Fonctions..... | 42 |
| III .2 . LES MÉCANISMES DE LA COAGULATION..... | 43 |
| III .2 .1. LA VOIE INTRINSÈQUE DE LA COAGULATION..... | 47 |
| III .2 .1.1. LA PHASE CONTACT..... | 47 |
| III .2 .1.1.1. Mécanismes d'activation..... | 47 |
| III .2 .1.1.1. Généralités..... | 47 |
| III .2 .1.1.2. Activation du facteur XII..... | 49 |
| III .2 .1.1.3. Activation de la prékallieréine..... | 51 |
| III .2 .1.1.4. Activation du facteur XI..... | 51 |
| III .2 .1.2. Interaction de la phase contact avec les autres systèmes biologiques..... | 54 |
| ❖ Avec la voie extrinsèque de la coagulation..... | 54 |
| ❖ Avec la fibrinolyse..... | 55 |
| Résumé | 58 |
| BIBLIOGRAPHIE..... | |

Liste Des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Résumé schématique de l'hémostase primaire..... | 3 |
| Figure 2 : Schéma de la structure du thrombocyte | 7 |
| Figure 3 : Voie de formation du thromboxane A2 | 11 |
| Figure 4 : L'hémostase formé d'un thrombus..... | 16 |
| Figure 5 : Modélisation de la structure de la Fibrinogène chez l'homme..... | 17 |
| Figure 6 : Représentation schématique de la formation de la fibrine à partir du Fibrinogèn..... | 18 |
| Figure 7 : Modélisation de la structure de la thrombine chez l'Homme..... | 20 |
| Figure 8 : Représentation de la structure chimique de la vitamine k1 | 28 |
| Figure 9 : Représentation schématique de la formation vitamine k quinone..... | 29 |
| Figure 10 : Les trois structures chimiques de l'antivitamine k..... | 31 |
| Figure 11 : Voie intrinsèque de la coagulation..... | 33 |
| Figure 12 : La voie extrinsèque de la coagulation..... | 35 |
| Figure 13 : La voie commune de la coagulation..... | 36 |
| Figure 14 : Schéma de la coagulation dit en Y avec ses trois étapes essentielles..... | 44 |
| Figure 15 : Représentation des mécanismes de la coagulation sanguine..... | 46 |
| Figure 16 : Schéma du mécanisme d'activation de la phase contact..... | 48 |
| Figure 17 : Mécanisme d'activation du facteur XII..... | 50 |
| Figure 18 : Modèle schématique du facteur XII..... | 51 |
| Figure 19 : Mécanisme d'activation de la prékallicérine..... | 52 |
| Figure 20 : Mécanisme d'activation du facteur XI..... | 53 |
| Figure 21 : Les trois voies d'activation de la fibrinolyse, à partir du schéma proposé par Kluft et al..... | 55 |

TABLEAU

Tableau 1 : caractéristiques des différentes protéines plasmatiques de la coagulation.....31

Tableau 2 : caractéristiques des différents facteurs de la coagulation41

Liste Des Abréviations :

- ADP : Adénosine Di-Phosphate.
- AMP : Adénosine Mono-Phosphate.
- AMP_C : Adénosine Mono-Phosphate cyclique.
- AVK : Antivitamine K.
- BGT : B-Thrombomoduline.
- F4B : Facteur 4 plaquettaire.
- GLA : acide γ -carboxyglutamique.
- GLU : acide glutamique.
- GMP : Guanosine mono-Phosphate cyclique.
- HWK : kininogène de haut poids moléculaire.
- LTB₄ : Leucotriène B₄.
- NO : Monoxyde d'azote.
- PAI-1 : Inhibitor de l'Activateur du Plasminogen.
- Pc : Phosphatidyl Choline.
- PE : Phosphatidyl éthanolamine.
- PI : Phosphatidyl Inositol.
- PG : Prostaglandine.
- PGI₂ : La prostacycline.
- PS : Phosphatidyl Sérine
- TAFI : Thrombin Activable Fibrine Inhibitor.
- TFPI : Tissue Factor Pathway Inhibitor.
- tPA : Tissue Plasminogen Activator.
- S : Sphingosine.
- vWF : Facteur von Willebrand.
- vit k : vitamine k.

Introduction

Introduction :

Le contrôle de l'hémostase est un enjeu majeur de la prise en charge des patients en traumatologie [1]. L'hémorragie incontrôlable est la deuxième cause de mortalité en contexte traumatique, responsable de 40% des décès [2].

L'hémostase est un phénomène physiologique constitue l'ensemble des mécanismes qui assurent la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies et limiter toutes les pertes sanguins provoquées par une lésion vasculaire par réparation de la brèche vasculaire [3]. L'hémostase est constituée de L'hémostase primaire conduisant au thrombus plaquettaire, de L'hémostase secondaire ou coagulation plasmatique qui consolide le thrombus plaquettaire par la constitution d'un réseau de fibrine et de la fibrinolyse, qui conduit à la dégradation enzymatique de la massrinoplaquettaire à l'issue de la réparation vasculaire [4].

Lorsqu'il se produit une lésion d'un vaisseau, une partie du sous endothélium se retrouve en contact avec la lumière vasculaire. Il se met alors en place le processus d'hémostase primaire qui peut se subdiviser en 3 phases successive : i, l'adhésion des plaquettes aux protéines de sous endothélium (en particulier le collagène), ii, L'activation des plaquettes qui se caractérise par un changement de forme avec sécrétion de protéines pro agrégantes, iii, l'agrégation des plaquettes [5]. La cascade de la coagulation fait intervenir de nombreux facteurs, numérotés en chiffres romains. Elle peut suivre deux voies : voie extrinsèque et voie intrinsèque [3]. Voie intrinsèque (endogène) : tous les éléments nécessaires à la coagulation sont présents dans le plasma, sans apport extérieur. Voie extrinsèque (exogène) : la plus importante qui pour être activée nécessite la présence d'éléments tissulaires appelés thromboplastine tissulaire (ou facteur tissulaire FT) [7].

La coagulation comporte une cascade de réactions enzymatiques impliquant les facteurs de la coagulation dont plusieurs sont des protéases comportant une sérine au niveau du site actif et soumises à des activations et à des inhibitions. L'étape finale est la transformation du fibrinogène soluble en filaments de fibrine qui encerclent dans leurs mailles les cellules circulantes. Les facteurs de la coagulation sont désignés par des numéros allant de I à XIII. A l'exception du facteur XIII qui intervient dans la dernière étape de la coagulation, les autres facteurs interviennent dans l'ordre inverse de leur numérotation ; ainsi le facteur XII

initie la coagulation et le facteur I la termine. Chaque facteur existe sous forme de précurseur inactif et sous forme activée, indiquée par la lettre a[6].

Les pathologies de l'hémostase son nombreuses et peuvent toucher l'hémostase primaire (anomalies plaquettaires : thrombopénies acquises centrales ou périphériques thrombopénies constitutionnelles, thrombopathies, anomalies plasmatiques constitutionnelles ou acquises) ou la coagulation (hémophilies, déficit en facteur de la coagulation, etc.).L'étude de l'hémostase est donc extrêmement importante en clinique [7].

Notre objectif principale dans cette étude est la connaissance et compréhension de la physiologie de l'hémostase et les déférents facteurs de la coagulation et le monde d'action des anticoagulants naturelle et de synthèses, et en fin l'exploration et le diagnostique d'un déficit de ces facteurs par l'utilisation des différents tests biologique et l'effet toxique de quelques médicament sur les facteurs de la coagulation.

En fin le problème majeur qui peut être abordé à travers cette étude est comment prendre la précaution nécessaire qui peut protéger l'organisme de l'extension de processus coagulant.

L'approche analytique adoptée dans notre étude comprend les axes suivants :

1. Etude des trois étapes de l'hémostase.
2. Etude les mécanismes de la coagulation.
3. Etude de facteur XI et XII de la coagulation.

Chapitre 1

Données bibliographiques

I. PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE :

I.1. L'HEMOSTASE PRIMAIRE :

L'hémostase primaire est un système physiologique survenant suite à une lésion vasculaire et dont les interactions complexes aboutissent à la formation d'un caillot plaquettaire stable, le clou plaquettaire. Lors de lésion vasculaire, la barrière des cellules endothéliales est rompue et la mise à nue du sous-endothélium induit une diminution locale des facteurs inhibant l'adhésion plaquettaire et une exposition du collagène sous-endothélial. Ces différents événements entraînent l'initiation simultanée des deux temps de l'hémostase primaire : le temps vasculaire et le temps plaquettaire.

Elle fait intervenir le vaisseau, les plaquettes et les protéines de la coagulation. C'est un phénomène localisé, rapide grâce à une auto-amplification locale mais néanmoins régulé négativement de façon à ne pas obstruer le vaisseau [8].

Le schéma synthétique (Figure 1) résume de façon simplifiée l'hémostase primaire. Les deux temps de l'hémostase seront détaillés dans les paragraphes 2 et 3 de ce I.

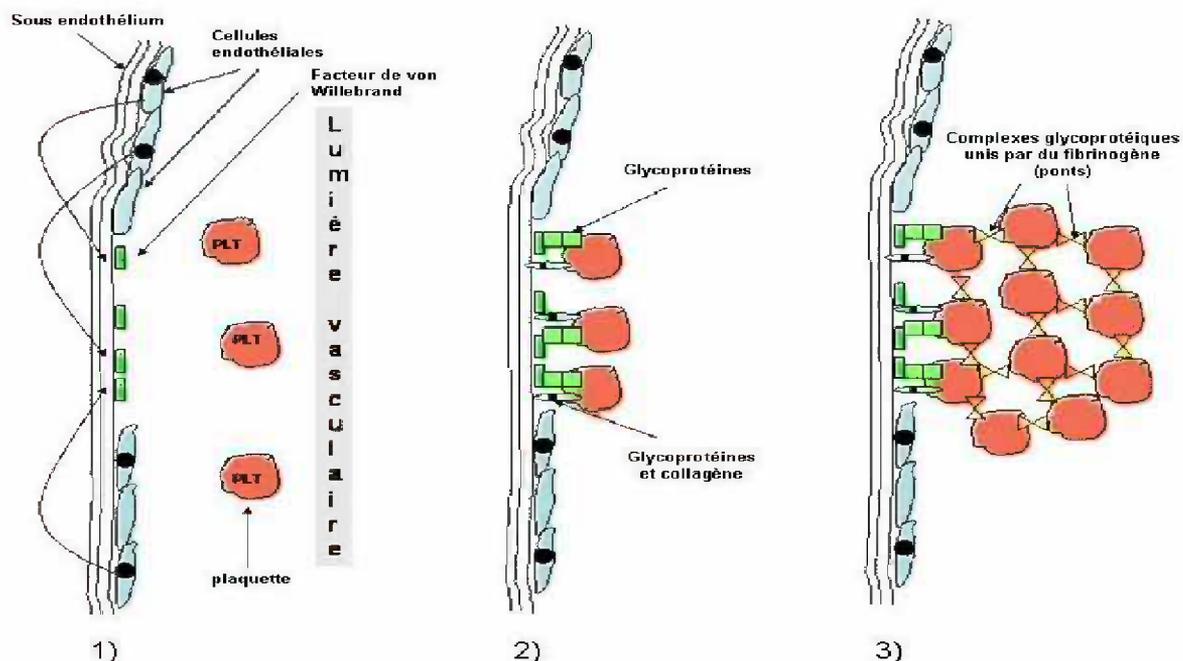


Figure 1 : Résumé schématique de l'hémostase primaire

Légende :

1) Le sous endothélium mis à nu par la brèche vasculaire laisse apparaître des Molécules de collagène et du facteur de vonWillebrand (synthétisé par les Cellules endothéliales).

2) Les plaquettes circulantes se lient au facteur de vonWillebrand et au Collagène par l'intermédiaire de glycoprotéines.

3) Les plaquettes se lient entre elles en formant des ponts à l'aide de Glycoprotéines et de fibrinogène. Le clou plaquettaire est alors formé et Bouche la brèche vasculaire.

Avant d'aborder les deux temps de l'hémostase primaire, nous allons détailler les caractéristiques Des différents acteurs intervenant dans ce phénomène.

I. 1. 1. Eléments intervenant dans l'hémostase primaire :

I. 1. 1. 1. Les Cellules endothéliales :

Les cellules endothéliales reposent sur une membrane basale, constituée de protéines de la matrice extracellulaire sécrétées par les fibroblastes, qui les sépare des cellules sous-jacentes. A l'extérieur de la membrane basale, on trouve les fibres musculaires lisses du média.

Les cellules endothéliales intacte sécrètent différents facteurs permettant d'inhiber l'adhésion et l'agrégation des plaquettes afin d'éviter la formation de

thrombus dans le système sanguin. Deux composés principaux, la prostacycline et le monoxyde d'azote, interviennent dans ce mécanisme. Ils ont une action vasodilatatrice et s'opposent à l'adhésion plaquettaire en complément de la Charge négative de la surface cellulaire. Une ecto-ADPase est présente à la surface des cellules endothéliales et dégrade un agoniste plaquettaire, l'ADP (Adénosine Di-Phosphate) en AMP (Adénosine Mono-Phosphate) limitant ainsi le recrutement plaquettaire [8].

✓ Prostacycline :

La Prostacycline (ou PGI₂) est un époxyde dérivé d'une prostaglandine, la prostaglandine H₂ suite à son activation par la prostacycline synthétase. Ces effets sont opposés à ceux du thromboxane A₂.

Elle active l'adénylcyclase plaquettaire et entraîne une élévation du niveau intracellulaire d'AMPc (Adénosine Mono-Phosphate cyclique) d'où une inhibition de la réactivité plaquettaire. Ses propriétés vasodilatatrices sont très puissantes [9].

✓ Monoxyde d'azote :

Le monoxyde d'azote, de formule NO, entraîne une élévation du niveau intracellulaire de GMPc (Guanosine Mono-Phosphate cyclique) dans les cellules endothéliales ; il en résulte alors le maintien d'une concentration cytoplasmique basse en calcium et une diminution consécutive de l'activité de la phospholipase C qui intervient dans la voie de synthèse des phospholipides impliqués dans l'hémostase (voir la partie 2ba de cette partie) [9].

Il est synthétisé à partir de la L-Arginine sous l'action de la NO synthase. Le frottement du sang sur la paroi du vaisseau semblerait être le stimulus de cette synthèse.

✓ Autres rôles :

La surface de l'endothélium contient la thrombomoduline dont le rôle est de limiter l'action de la thrombine sur le fibrinogène et d'activer le système de la protéine C. Des protéoglycanes de surface lient l'antithrombine III et le TFPI (Tissu Factor Pathway Inhibitor) ce qui limite l'activité procoagulante du milieu.

Enfin les cellules endothéliales libèrent le tissu Plasminogen Activator (tPA) responsable de l'activation de la fibrinolyse ainsi que de la protéine régulant son activité, l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1) [9].

I. 1. 1. 2. Les Plaquettes :

✓ Origine :

Les thrombocytes sont synthétisés dans la moelle osseuse en plusieurs étapes.

Les Mégacaryoblastes se transforment progressivement en mégacaryocytes dont la fragmentation cytoplasmique est à l'origine des thrombocytes. La durée de cette production plaquettaire est d'une dizaine de jours.

✓ Structure

Les plaquettes sont des cellules anucléées discoïdes à l'état inactif.

Elles mesurent entre 5 et 7 μm de diamètre pour une épaisseur de 3 μm soit le dixième de la taille d'une hématie. Elles contiennent des granules dont le contenu est sécrété lors de l'activation via un système caniculaire ouvert sur l'extérieur (Figure 2) [9].

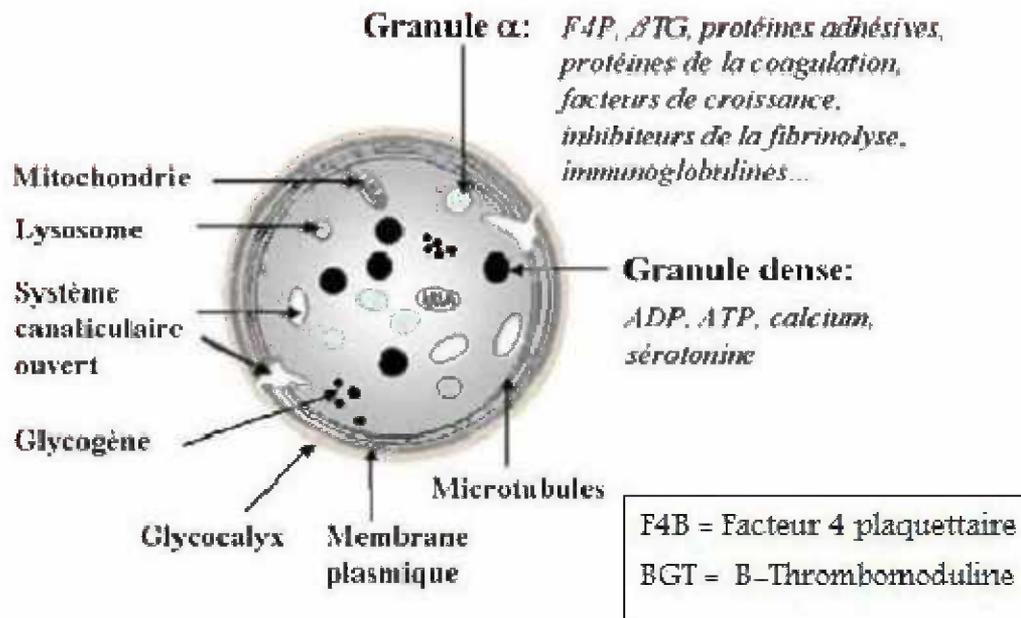


Figure 2 : Schéma de la structure du thrombocyte [10]

Légende :

- le granule α contient le F4B (Facteur 4 plaquettaire), le β TG (β -Thrombomoduline), des protéines de la coagulation, des facteurs de Croissance, des inhibiteurs de la fibrinolyse, des immunoglobulines ...,
- les granules denses contiennent notamment de l'ADP, de l'ATP, du calcium Et de la sérotonine.

✓ Membrane :

La membrane plaquettaire est couverte par un glycocalyx épaisse de 15 à 20 nm, riche en facteurs de la coagulation (II, VII, IX, X, XII) plus ou moins solidement ancrés, en amines vaso-actives et en facteur de vonWillebrand [8].

Chargée négativement, la membrane entraîne la répulsion entre plaquettes et entre les plaquettes et l'endothélium vasculaire. La régulation du fonctionnement plaquettaire est assurée par les phospholipides membranaires qui sont à la base des messagers intracellulaires et de métabolites actifs.

Enfin les plaquettes contiennent des glycoprotéines, comme les intégrines, intervenant dans l'adhésion et l'agrégation plaquettaire.

- Les phospholipides membranaires :

Ils ont une importance considérable d'un point de vue fonctionnel et quantitatif. Les quatre phospholipides membranaires les plus importants sont : la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), la sphingosine (S) et la phosphatidylsérine (PS). La structure est complétée par d'autres phospholipides tels que le phosphatidylinositol (PI) [8].

A l'état normal la distribution de ces molécules est asymétrique :

- les phospholipides chargés négativement (PS et PE) sont présents sur l'hémimembrane interne,
- les phospholipides neutres (PC et S) se trouvent sur l'hémimembrane externe.

- Les intégrines :

Les intégrines sont des glycoprotéines intervenant dans la médiation de nombreuses interactions cellulaires parmi lesquelles l'adhésion et l'agrégation plaquettaire.

Chaque intégrine est constituée de deux sous-unités (α et β) reliées de manière non covalente. Chacune d'elle comporte un domaine extracellulaire possédant des sites de liaison aux cations divalents, un domaine membranaire et un domaine cytoplasmique connecté au cytosquelette par l'intermédiaire de protéines et de complexes intervenant dans la transmission des signaux cellulaires. Le gène codant pour ces deux sous-unités a été localisé sur le chromosome 17 en Position 17q21-23 chez l'Homme [8].

- Autres récepteurs membranaires :

✓ **Cytoplasme :**

Le cytoplasme contient, comme dans toutes les cellules un cytosquelette à l'origine du changement de conformation des plaquettes. Mais il comprend également un système canaliculaire et un système granulaire constitué de granules α et de granules denses, dont la libération sera le point de départ de nombreuses réactions [8].

- Cytosquelette :

Le cytosquelette est constitué de filaments d'actine qui sont les éléments contractiles du thrombocyte. Ils permettent le changement de conformation nécessaire à l'action de la plaquette lors de sa stimulation ainsi que l'émission de pseudopodes. Tous ces mécanismes sont importants pour la diffusion et l'adhésion plaquettaire, l'agrégation, la sécrétion et enfin la rétraction du clou plaquettaire. L'activité du cytosquelette est dépendante de la concentration plasmatique en calcium [8].

I. 1. 1. 3. Facteur de Von Willebrand :

✓ **structure :**

Le facteur de von Willebrand est une glycoprotéine synthétisée au niveau des cellules Endothéliales et des mégacaryocytes, ces derniers en synthétisant entre 10 et 25 % selon l'espèce. Il est présent dans le plasma, dans les granules α des thrombocytes, dans les cellules endothéliales et dans le sous-endothélium.

Le facteur de von Willebrand (vWF) est une glycoprotéine multimérique dont le poids moléculaire est variable entre 540 à plusieurs millions de kDa en fonction du degré de polymérisation qui lui-même dépend de la localisation anatomique du vWF. Chez l'Homme sa concentration plasmatique est comprise entre 5 et 10 mg/L. Cette protéine contient

plusieurs domaines fonctionnels : des sites de liaison pour le collagène, des autres sites pour l'héparine, un site pour la GPIb et un pour la GPIIb/IIIa [11].

Il existe de nombreux facteurs influençant le taux sanguin en vWF. On peut notamment citer:

L'exercice physique intense, le stress, la gestation, la lactation, les chaleurs, les affections Hépatiques, les inflammations, l'azotémie, l'hypothyroïdie, l'hypoglycémie. L'utilisation de Certaines substances comme la vasopressine, l'adrénaline, l'acépromazine ou la xylazine modifient aussi ce taux donc il faudra en tenir compte lors de dosage réalisé sur des prélèvements obtenus suite à une anesthésie [11].

✓ Rôle du VWF :

Ce facteur possède deux rôles majeurs dans l'hémostase :

- il participe à l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium au cours de l'hémostase Primaire.
- il intervient dans la coagulation plasmatique dans le transport et la stabilité du facteur VIII circulant (VIII:C).

Dans le plasma, la liaison du vWF au facteur VIII:C est une liaison non covalente qui permet d'assurer la stabilité du facteur VIII:C en le protégeant de la dégradation protéolytique. Toutefois il semble que, chez le Chien, ce rôle protecteur soit moins important que chez l'Homme [12].

I. 1. 1. 2. TEMPS VASCULAIRE :

Lors de lésion de petits vaisseaux, le premier phénomène à se mettre en place est une Vasoconstriction passive liée à l'élasticité de la paroi, indépendante de la vasoconstriction Artérielle. Cette vasoconstriction devient rapidement active grâce à une contraction réflexe des fibres musculaires lisses de la paroi vasculaire [13].

Dans le même temps, des plaquettes adhèrent au niveau de la lésion ; ce phénomène les amène alors à sécréter des molécules vasoconstrictrices telles que la sérotonine, l'adrénaline et la noradrénaline. De plus l'acide arachidonique des phospholipides de la membrane plaquettaire est mobilisé afin de permettre la synthèse de thromboxane A2 (Figure 3).

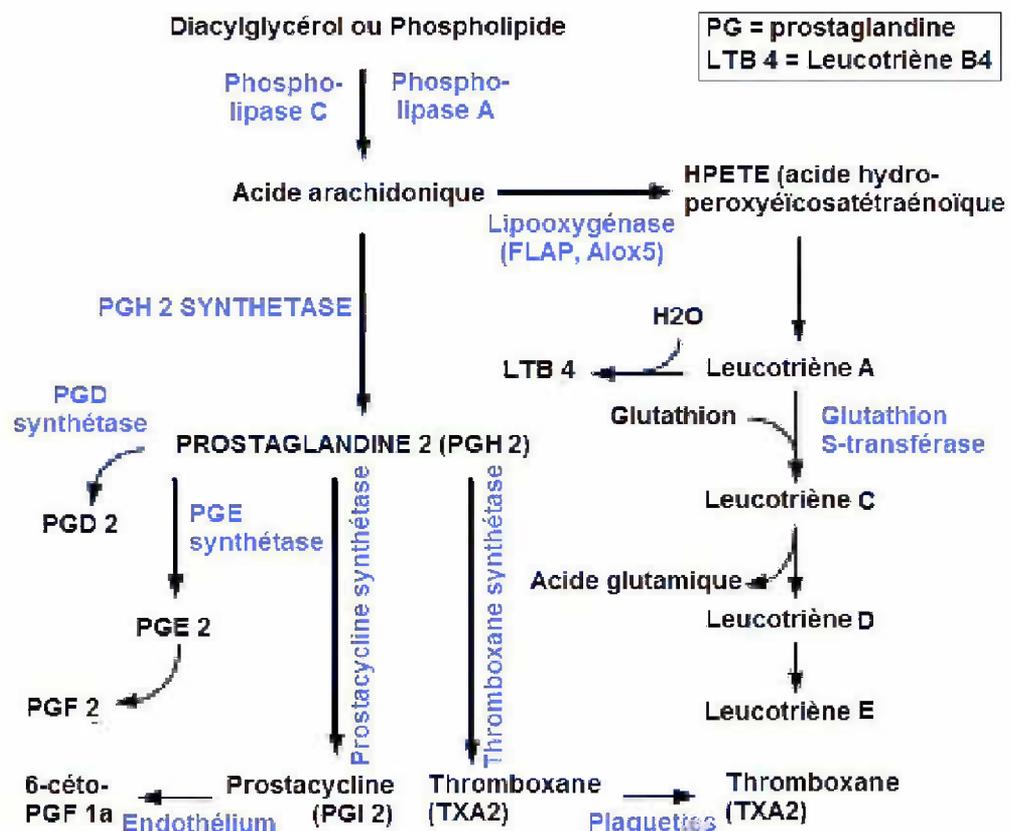


Figure 3 : Voie de formation du thromboxane A2.

Légende :

- L'enzyme indiquée en regard des flèches et celle permettant la Réaction (exemple : le PGH 2 synthétase permet la formation de Prostaglandine 2 à partir d'acide arachidonique).

- Lorsque diverses enzymes Interviennent c'est le lieu de la réaction qui est indiqué (endothélium ou Plaquettes).

Le thromboxane A2 est une molécule aux propriétés vasoconstrictrices et proagrégantes Plaquettaires.

Les cellules endothéliales activées expriment à leur surface le facteur tissulaire dont l'interaction avec le facteur VII est à la base de la voie extrinsèque de la coagulation aboutissant à la formation de thrombine. La thrombine initie la cascade de réactions nécessaires à l'agrégation plaquettaire :

Changement de conformation, agrégation, sécrétion du contenu des granules et synthèse de Composés réactifs. Ces cellules sécrètent dans le même temps le facteur de von Willebrand qui va alors être libéré dans le plasma et se lier au sous-endothélium [9].

I. 1. 1. 3. TEMPS PLAQUETTAIRE

La première étape du temps plaquettaire correspond à l'adhésion des thrombocytes sur le sou endothélium ce qui est le point de départ d'une réaction en chaîne aboutissant à la sécrétion des granules plaquettaires. En parallèle les plaquettes adhèrent entre elles et forment un clou plaquettaire [13].

- **Lésion vasculaire:**

Rupture de la continuité de l'endothélium vasculaire.

- **Adhésion plaquettaire :**

Physiologiquement, les plaquettes n'adhèrent pas sur un endothélium sain grâce à divers Mécanismes vus précédemment.

Lors d'une lésion de cet endothélium vasculaire, l'exposition de la matrice sous-endothéliale riche en collagène permet l'adhésion des thrombocytes.

L'adhésion se fait par l'intermédiaire du vWF et des récepteurs GPIb/GPV/GPIX. Le Vwf Plasmatique se lie d'une part au collagène et aux glycosaminoglycanes du sous-endothélium et d'autre part aux récepteurs thrombocytaires [13].

Le calcium joue un rôle prépondérant dans tous ces phénomènes notamment au niveau du cytosquelette pour le changement de conformation des plaquettes. Le calcium est aussi impliqué dans la synthèse d'acide arachidonique et par conséquent dans la synthèse du thromboxane A2 [13].

- **Activation des plaquettes:**

transduction du signal; changement de forme, sécrétion, production d'agonistes secondaires, modifications membranaires.

- **Agrégation plaquettaire**

Le fibrinogène lié aux complexes GPIIb/IIIa permet la formation de ponts, à la fois entre les Plaquettes déjà liées au sous-endothélium, mais aussi avec des plaquettes nouvellement recrutées.

L'agrégation est renforcée par la présence d'agonistes plaquettaires stockés dans les granules denses (ADP, sérotonine, épinéphrine) ou nouvellement synthétisés (*Platelet Activating Factor*, thromboxane A2) qui sont libérés lors de l'activation plaquettaire.

L'agrégation plaquettaire est aussi à l'origine d'une activité procoagulante de la part des Thrombocytes. La régulation de la distribution des phospholipides membranaires est à la base de ce mécanisme [9].

L'augmentation de la concentration cytoplasmique en calcium provoque l'inhibition de la translocase et de la « floppase » rendant possible les mouvements entre les deux hémimembranes des phospholipides. L'activation induit dans le même temps des sites de liaison pour les facteurs V activé et VIII activé ce qui permet l'activation de la prothrombine en thrombine par les voies intrinsèque et commune de la coagulation [9].

I. 2. Physiopathologie de l'hémostase primaire :

I. 2. 1. trouble de l'hémostase primaire :

- **Les plaquettes :**

- **Thrombopénies :**

= diminution du nombre (= quantité) de plaquettes.

Les deux mécanismes les plus importants sont un déficit de production des plaquettes ou une destruction augmentée [14].

- **Thrombopathies :**

= altération de la qualité des plaquettes

Elles peuvent être constitutionnelles ou acquises [15].

- Thrombopathies constitutionnelles (rares mais très intéressantes).

- Syndrome de Bernard-Soulier : absence ou anomalie du complexe glycoprotéique GPIb-IX-V qui est le récepteur du facteur von Willebrand et est nécessaire à l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium [16].

- Thrombasthénie de Glanzmann : absence ou anomalie du complexe glycoprotéique GPIIb-IIIa qui est le récepteur du fibrinogène (et de nombreuses autres protéines) et qui est nécessaire à l'agrégation des plaquettes entre elles [16].

- Anomalies de la sécrétion plaquettaire : soit par absence de granules denses dans les plaquettes (= maladie du "pool vide"), soit par anomalie de la voie des prostaglandines, soit par déficience sélective d'une protéine contenue dans les granules alpha [17].
 - Thrombopathies acquises.

- Médicamenteuses: certains médicaments, comme l'acide acétylsalicylique ou le clopidogrel, inhibent les fonctions plaquettaires.

- Associées à d'autres maladies: notamment au cours de l'insuffisance rénale ou de certaines hémopathies [18].

I.2.2. maladie de von willebrand :

Elle est une des maladies hémorragiques familiales les plus fréquentes. Elle n'est pas due à une anomalie de la plaquette proprement dite mais à une diminution du facteur von Willebrand, indispensable à l'adhésion des plaquettes au sous endothélium [19].

Elle se traduit habituellement par un allongement du PFA, un déficit en facteur von Willebrand et une diminution du facteur VIII. Cette diminution conjointe s'explique par le rôle protecteur du facteur von Willebrand sur le facteur VIII auquel il est lié dans le plasma [20].

Chapitre II

II. LA COAGULATION OU PHASE PLASMATIQUE :

L'hémostase primaire suffit à stopper un saignement dû à la lésion d'un capillaire. Elle est Renforcée par le phénomène de coagulation si le vaisseau endommagé est de plus gros diamètre.

La coagulation est l'ensemble du processus qui conduit à la formation du caillot sanguin par Transformation du fibrinogène, protéine plasmatique soluble, en fibrine insoluble. La phase Plasmatique fait intervenir de nombreux facteurs qui interagissent entre eux [21].

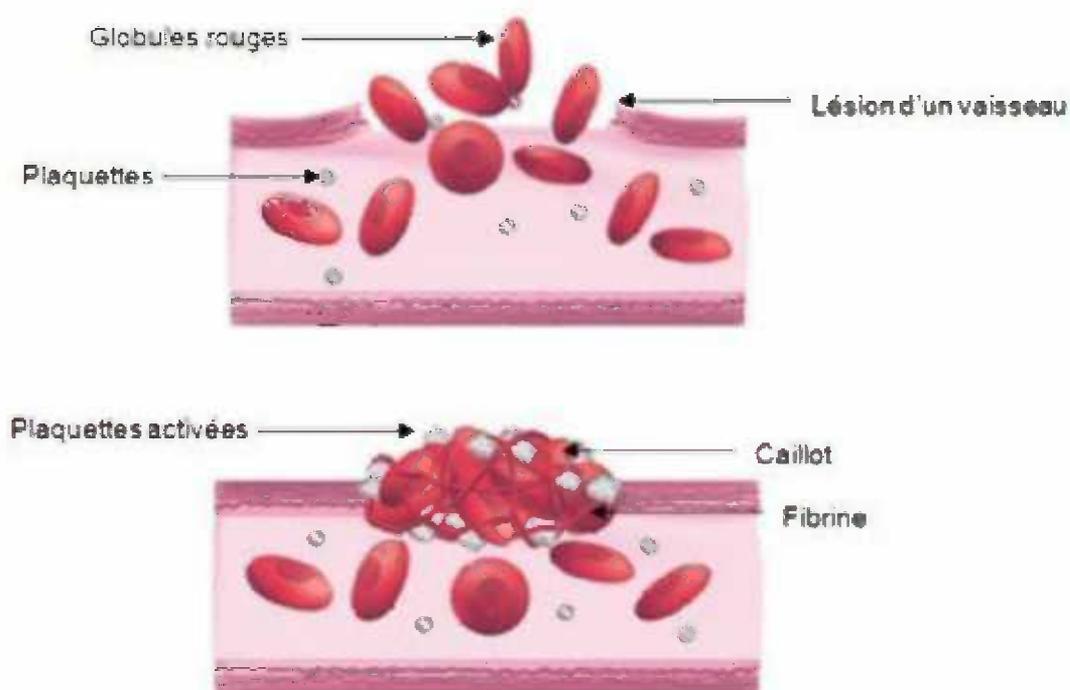


Figure 4 : L'hémostase formée d'un thrombus.

II.1.LES DIFFÉRENTS FACTEURS DE LA COAGULATION :

Les facteurs de coagulation sont désignés par un numéro dont l'origine dépend de leur découverte.

Les différents facteurs nécessitent une activation, on les désigne alors par la lettre a (exemple : facteur VII activé = VIIa).

II.1.1.Facteur I :

- **Fibrinogène**

Le facteur I ou fibrinogène est une protéine plasmatique soluble dont la conversion en fibre Insoluble se fait par l'action de la thrombine ou d'enzymes *thrombin-like*.

Il est synthétisé principalement au niveau des hépatocytes, mais aussi au niveau des mégacaryocytes. Il a un poids moléculaire estimé entre 340 et 370 kDa.

La molécule de fibrinogène est une protéine hexamère faite de 3 chaînes différentes reliées entre elles : $A\alpha$, $B\beta$ et γ . Néanmoins il existe une autre forme de fibrinogène, le fibrinogène 420, qui représente 1 % du total plasmatique et de poids moléculaire 420 kDa.

La molécule de fibrinogène est formée de 2 sous-unités identiques reliées par des ponts disulfures, donnant à la molécule une forme de fibre contenant 3globules : un central (domaine E) et deux distaux (domaines D).

Enfin le facteur I contient 4 chaînes polysaccharidiques [11].

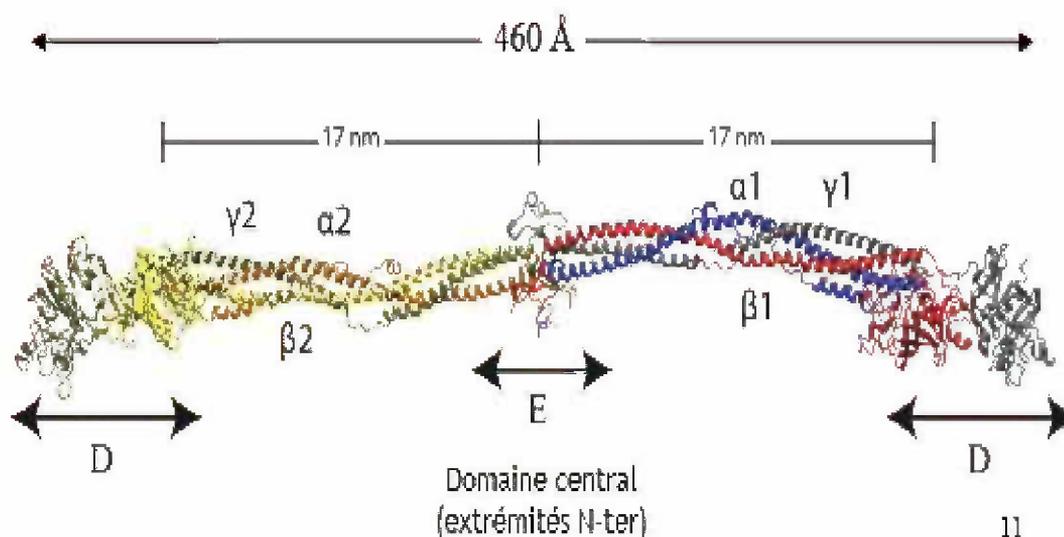


Figure 5 : Modélisation de la structure de la Fibrinogène chez l'homme.

▪ Fibrine

La thrombine clive la partie amino-terminale des chaînes $A\alpha$ et $B\beta$, libérant par la même les Fibrinopeptides A et B (en premier lieu A puis B) dans le globule central E, pour donner des Monomères de fibrine ; ce clivage est permis par la rupture des ponts arginine-glycine.

La Nouvelle chaîne amino-terminale ainsi formée au niveau du domaine E se lie au site « a » de la partie carboxy-terminale d'une chaîne γ (domaine D) d'un autre monomère de fibrine. Cette interaction permet la formation d'un alignement de monomères : la protofibrille. Les régions carboxy-terminale des chaînes α interagissent entre elles formant des fibres épaisses.

Enfin la polymérisation de la chaîne β avec un site b pour le moment inconnu conduit à l'accroissement en largeur des fibrilles amenant à la formation de fibres (Figure 4). Toutes les liaisons faibles et ioniques ainsi formées seront renforcées par l'action du facteur XIIIa qui crée des liaisons covalentes entre les divers polymères.

Le rôle exact du fibrinogène 420 n'est toujours pas connu [22].

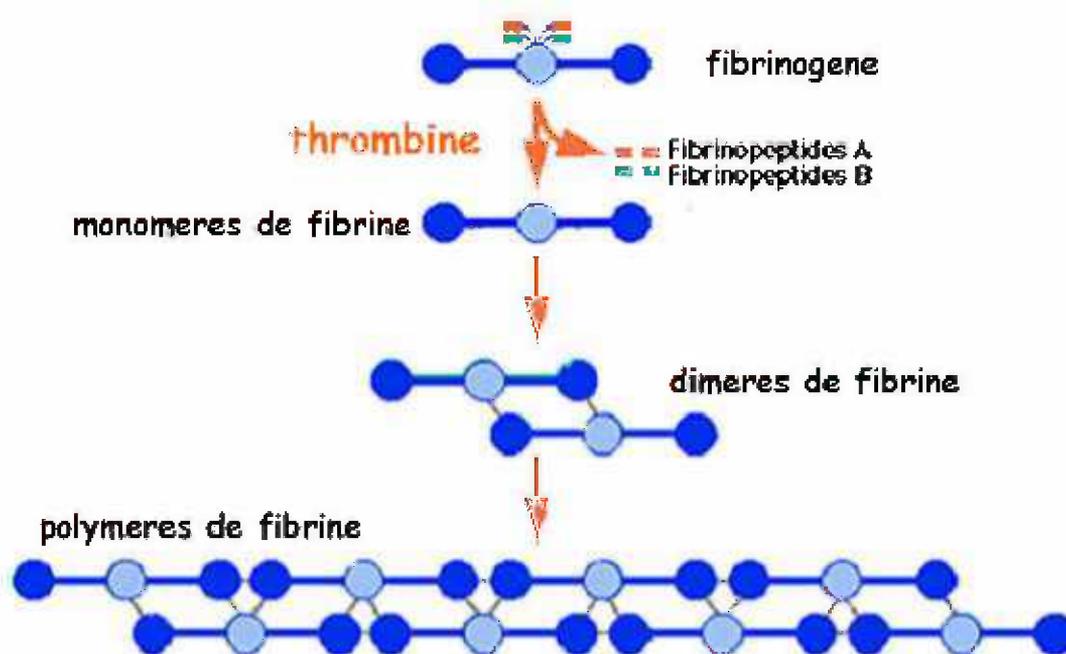


Figure 6 : Représentation schématique de la formation de la fibrine à partir du fibrinogène.

Légende :

- Les cercles foncés représentent les globules distaux (domaines D),
- Les cercles clairs le globe central (domaine E).
- La thrombine libère les Fibrinopeptides A et B du domaine E.
- Le domaine E d'un monomère se lie au Domaine D d'un autre monomère formant un dimère puis une protofibrille.
- La Polymérisation des protofibrilles forme alors une fibre épaisse.

II.1.2. Facteur II :

▪ Prothrombine :

Le facteur II ou prothrombine est une protéine plasmatique qui est le précurseur inactif de la Thrombine.

La synthèse s'effectue au niveau des hépatocytes et nécessite-la Présence de vitamine K.

La conversion de la prothrombine en thrombine nécessite la présence de calcium, du facteur Va, du facteur Xa et du facteur plaquettaire 3, qui forment un complexe appelé prothrombinase [11].

La protéine a un poids moléculaire de 70 kDa et une concentration plasmatique de l'ordre de 100 à 150 mg/L chez l'Homme. Sa demi-vie est d'environ 100 heures. Elle est composée de 579 acides aminés. Le gène codant pour la prothrombine est situé sur le chromosome 11 en position 11p11-q12 chez l'Homme [11].

▪ Facteurs procoagulants : la Thrombine :

La thrombine est formée de deux chaînes, une chaîne légère de 36 acides aminés et une chaîne Lourde de 259 acides aminés dont la formation est consécutive au clivage de la prothrombine. C'est au niveau de la chaîne lourde que se trouve le site actif de la molécule ; celui-ci est composé de 4 acides aminés : Sérine 195 – Histidine 57 – Asparagine 102 – Asparagine 189 (Figure 5).

Après activation, la thrombine se détache des phospholipides auxquels elle s'est liée au cours de l'activation de la prothrombine par le Facteur Xa [11].

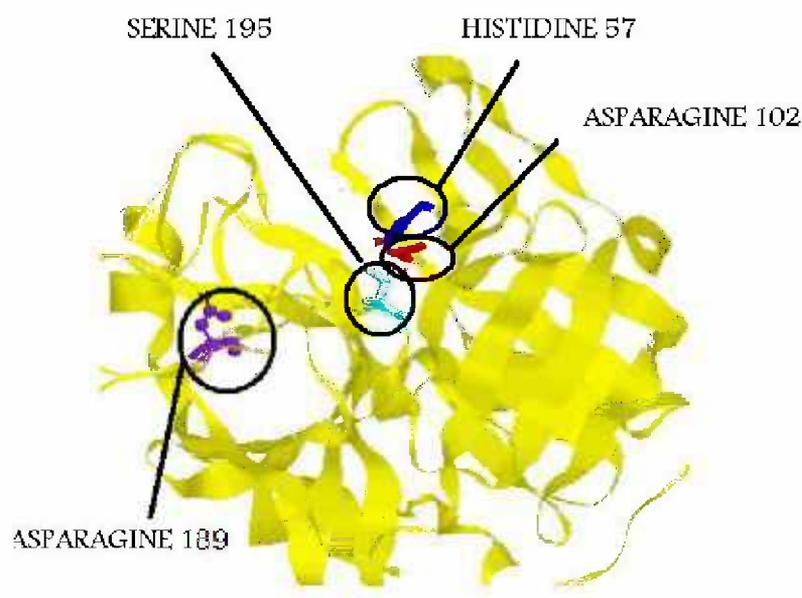


Figure 7 : Modélisation de la structure de la thrombine chez l'Homme [23].

Légende : Les résidus entourés interviennent dans le site actif de l'enzyme (Histidine 57, Asparagine 102, Asparagine 189, Sérine 195).

Elle active les facteurs V, VIII, XI et XII mais de manière antagoniste a également un effet anticoagulateur par sa liaison avec la thrombomoduline à l'origine d'une activation de la protéine C.

La thrombine joue un rôle dans la réponse inflammatoire et la cicatrisation ; elle a en effet un rôle chimiotactique sur les monocytes et les fibroblastes [23].

II.1. 3. Facteur III :

Le facteur III ou thromboplastine tissulaire (ou thrombokine ou facteur tissulaire) est une molécule potentiellement synthétisée par tous les tissus.

La thromboplastine permet l'activation du facteur VII et est à l'origine de la voie extrinsèque. Elle est présente sur la surface des vaisseaux sanguins et sa quantité augmente en cas d'inflammation [11].

La thromboplastine est une glycoprotéine à simple chaîne de 261 ou 263 acides aminés et de poids moléculaire de 45 kDa pour la molécule glycolyse.

La structure du facteur III est organisée en 3 domaines [11]:

- ✓ un domaine extracellulaire qui permet les interactions avec le facteur VII et qui est formé de 2 domaines de type III fibronectine,
- ✓ un domaine transmembranaire,
- ✓ un domaine intracellulaire de 21 acides aminés.

II.1. 4. Facteur IV :

Le facteur IV correspond au calcium qui intervient en de multiples étapes au cours de la Coagulation [11].

II.1. 5. Facteur V :

Le facteur V ou proaccéléline (ou AC-globuline (*globulin accelerans*)) est une molécule de poids moléculaire égal à 330 kDa. La proaccéléline est synthétisée au niveau des hépatocytes et des macrophages. La proaccéléline est présente dans le plasma et dans les granules α des plaquettes.

Le facteur V est activé en accéléline initialement par le facteur Xa et par de faibles concentrations du facteur II.

Le facteur V a également une action anticoagulante ; c'est en effet un cofacteur de la protéine C activé qui inhibe l'activation du Facteur VIII [11].

L'accéléline est inhibée par la protéine C activée qui la clive en 2 sites : Arginine 306 et arginine 506.

II.1. 6. Facteur VI :

Le facteur VI ou accéléline est la forme activée du facteur V et correspond donc au facteur Va [11].

II.1. 7. Facteur VII :

Le facteur VII ou proconvertine est une glycoprotéine plasmatique de 63 kDa, formée d'une seule chaîne de 406 acides aminés. La concentration plasmatique est de 1 $\mu\text{g/ml}$, sa demi-vie de 5 heures et son *turnover* de 2 heures.

La proconvertine est synthétisée au niveau des hépatocytes et sa synthèse dépend de la vitamine K. Le facteur VII est également activé par les facteurs Xa, IXa et XIIa et l'hepsine.

Le complexe Facteur III – Facteur VIIa est à l'origine d'une auto-activation du facteur VII [24].

II.1. 8. Facteur VIII :

Le facteur VIII:C (ou facteur antihémophilique) est une glycoprotéine composée de deux chaînes, une chaîne lourde de poids moléculaire variant entre 90 000 et 210 000 Daltons (Da) et une chaîne légère d'un poids moléculaire de 80 000 Da, stabilisée par un ion métallique de cuivre, dont la chélation avec le calcium inhibe l'activité du facteur VIII:C.

Le facteur VIII est un complexe composé du facteur VIII:C, du vWF mais également d'un facteur VIII antigénique (VIII: Ag) de gros poids moléculaire à l'origine de l'antigénicité globale mais dont on sait peu de choses [25].

Le facteur VIIIa est un cofacteur du facteur IXa, des phospholipides et du calcium. Le complexe ainsi formé permet l'activation du facteur X [25].

II.1. 9. Facteur IX :

Le facteur IX (ou facteur Christmas) est une sérine protéase de 62 kDa de poids moléculaire.

Il intervient au sein du complexe ténase (VIIIa-IXa-PF3-Ca) pour activer le facteur X. Sa synthèse a lieu au niveau des hépatocytes et est vitamine K-dépendante [11].

Le facteur IX est en compétition avec le facteur X pour le site actif du facteur VIIa.

Le facteur IXa est inhibé par l'antithrombine III. La transformation du facteur IX en IXa est inhibée par la protéase nexine II [11].

II.1. 10. Facteur X :

Le facteur X (ou facteur Stuart-Prower) est une sérine protéase vitamine K-dépendante de poids moléculaire de 59 kDa, synthétisée dans le foie sous forme d'un précurseur de 488 acides aminés [11].

L'activation du facteur X est la première réaction de la voie commune de la coagulation. Le facteur X peut être clivé en facteur Xa :

- par la voie intrinsèque par l'action du complexe VIIIa-IXa-PF3-Ca.
- par la voie extrinsèque par l'action du complexe IIIa-VIIa-Ca.

Le rôle du facteur Xa est de former avec le facteur Va, le PF3 et le calcium le complexe Prothrombinase à l'origine de la formation de thrombine.

Le facteur Xa est également un activateur de la protéine C [11].

Le facteur X est inhibé par l'antithrombine III et par TFPI (*Tissue Factor Pathway Inhibitor*).

II.1 .11. Facteur XI :

Le facteur XI ou *plasma thromboplastine antecedent* ou facteur Rosenthal, est une glycoprotéine formée de 2 chaînes et dont le poids moléculaire est de 160 kDa chez l'Homme. Il est synthétisé par les hépatocytes.

Le facteur XI est essentiellement activé par la thrombine. En effet, la coagulation est déclenchée par le facteur III suite à la présence d'une brèche vasculaire ce qui induit les activations consécutives du facteur VII, du facteur X et pour finir de la prothrombine par la voie extrinsèque.

La thrombine active alors les facteurs V et VIII ce qui par rétroactivation permet l'activation du facteur XI ou facteur XIa [11].

II.1 .12. Facteur XII :

Le facteur XII ou facteur Hageman est une glycoprotéine qui s'autoactive au contact de surfaces chargés négativement.

Chez l'Homme c'est une glycoprotéine de 80 kDa dont la demi-vie plasmatique est de 60 heures.

Le facteur XII joue également un rôle de promoteur dans l'activation du complément, dans l'inflammation, dans la fibrinolyse et dans les modifications de perméabilité vasculaire [26].

II.1 .13. Facteur XIII :

Le facteur XIII est une glycoprotéine de 320 kDa dont la concentration Plasmatique est de 10 µg/ml, la demi-vie de 150 heures chez l'Homme.

Chez l'Homme, sa concentration plasmatique augmente avec l'âge, le sexe (femme > homme) et le tabac.

Le facteur XIII ou facteur stabilisateur de la fibrine est une transglutaminase qui agit sur les polymères de fibrine.

L'activation du facteur XIII est permise par la thrombine, son action étant toutefois dépendante du calcium. Le fibrinogène est aussi un promoteur de la formation de XIIIa. Le facteur XIIIa favorise ainsi la résistance mécanique de la fibrine.

Il joue également un rôle dans le maintien de la grossesse chez la femme [11].

II.1 .14. Prékallicroïne :

La Prékallicroïne ou facteur Fletcher est une glycoprotéine à simple chaîne de 85 kDa dont le rôle est d'activer le facteur XII et plus faiblement le facteur IX [27].

Elle est synthétisée au niveau du foie. Elle joue un rôle dans la fibrinolyse par son activation de la pro-urokinase en urokinase [11].

II.1. 15. Autres acteurs intervenant dans la coagulation :

a. Facteurs permettant la coagulation :

○ *Facteur plaquettaire 3 :*

Le facteur plaquettaire 3 (PF-3) est une phospholipoprotéine chargée négativement présente au sein de la membrane plaquettaire qui, en présence de calcium, permet la fixation de nombreux facteurs notamment au sein du complexe prothrombinase [11].

○ *Facteur plaquettaire 4 :*

Le facteur plaquettaire 4 (PF-4) ou facteur antihéparinique est un facteur contenu au sein des granules α des thrombocytes.

Il est libéré lors du *release* plaquettaire (sécrétion plaquettaire). Il permet l'inhibition de l'héparine [11].

b. Les Facteurs anticoagulants ou Inhibiteurs de la coagulation [11] :

A côté des facteurs procoagulants, il existe des facteurs anticoagulants, notamment l'antithrombine III, l'Héparine, la protéine C et la protéine S. Leur déficience se traduit par une augmentation des risques d'accidents thrombotiques.

❖ *Antithrombine III :*

L'antithrombine III est le principal agent inhibiteur de la coagulation retrouvé dans le plasma.

C'est une α_2 -glycoprotéine synthétisée par le foie.

Chez l'Homme, sa concentration plasmatique est comprise entre 180 et 300 mg/L et sa demi-vie est d'environ 60 heures. Cette molécule est à l'origine de la désactivation des facteurs IIa, IXa, Xa, XIa et XIIa. Elle agit également contre la plasmine et la kallikréine. Son action est potentialisée par la présence

D'héparine [11].

❖ *Héparine :*

L'héparine est une molécule faisant partie des glycosaminoglycanes aux propriétés Anticoagulantes très puissantes.

Elle agit comme un démultiplicateur de l'action de l'antithrombine III avec la quelle elle interagit. Elle est présente au niveau des tissus conjonctifs chez l'Homme. Elle est notamment sécrétée par les mastocytes lors de la réaction inflammatoire [11].

❖ *Protéine C :*

La protéine C est une sérine-protéase vitamine-K dépendante de poids moléculaire égal à 62 kDa. Elle est synthétisée par le foie et sa demi-vie est d'environ 16 heures. Elle circule sous forme inactive dans le plasma à une concentration comprise entre 2,7 et 6 mg/L et est activée par le complexe thrombine/thrombomoduline, sur la surface des cellules endothéliales, en protéine C activée. Le facteur Xa peut également activer la protéine C [11].

La protéine C activée permet le clivage des facteurs Va et VIIIa. La protéine C activée diminue donc la formation de thrombine et par la même diminue la formation de TAFI (*Thrombin- Activable Fibrin Inhibitor*) et donc augmente la fibrinolyse.

La protéine S agit comme un cofacteur de la protéine C activée et augmente la vitesse de dégradation du facteur Va [11].

❖ **Protéine S :**

La protéine S est une glycoprotéine à simple chaîne vitamine-K dépendante et de poids Moléculaire égal à 70 kDa. Elle est synthétisée et sécrétée par les cellules endothéliales puis se lie à leur surface.

La protéine S est un cofacteur de la protéine C activée qui possède 3 fonctions [11] :

- ← - cofacteur de l'inactivation des facteurs Va et VIIIa.
 - ← - inhibition de l'activité de la prothrombinase par liaison avec les facteurs Va et Xa.
 - ← - inhibition de l'activité du facteur X par interaction avec le facteur VIII.
- La thrombine permet l'inactivation de la protéine S par clivage.

NB :

Le TFPI, fixé sur les glycosaminoglycanes de la paroi vasculaire, forme un complexe avec le FXa. Le complexe FXa-TFPI se fixe sur le complexe FT-FVIIa et bloque l'initiation de la coagulation par le facteur tissulaire.

c. La Vitamine K :

- La Définition :

Le terme de vitamine K (K pour coagulation en allemand) désigne en fait un ensemble de substances ayant une structure chimique et des propriétés biologiques communes.

Toutes comportent un noyau naphthoquinone (2-méthyl-1-4-naphthoquinone) substitué en position 3 soit par une chaîne phytyl (phytoménadione ou vitamine K1) soit par des résidus prényl (ménaquinone ou vitamine K2) ou substitué seulement par un hydrogène (ménadione ou vitamine K3) [11].

- La structure :

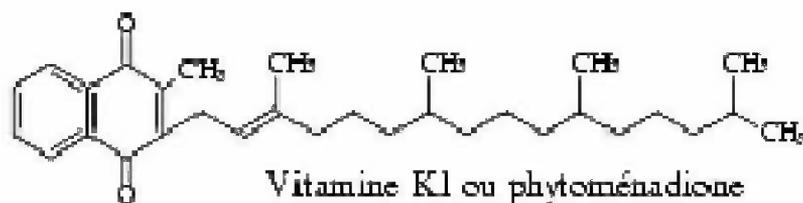


Figure 8 : Représentation de la structure chimique de la vitamine k1.

- **Le rôle biologique de la vitamine K dans la synthèse des protéines de la coagulation :**
 - La vitamine K est nécessaire à la carboxylation post-translationnelle, sous l'influence d'une carboxylase, des résidus glutamate de certaines protéines pour les transformer en gamma-carboxyglutamate, Gla.
 - Les résidus glutamate ainsi carboxylés sont des diacides de type $[R-C-(COOH)_2]$ qui fixent chacun un ion Ca^{2+} ce qui les rend fonctionnels, capables d'interagir notamment avec les phospholipides.
 - Cette carboxylation s'effectue en présence d'oxygène, de dioxyde de carbone et de vitamine K réduite (KH_2). La vitamine K réduite est oxydée au cours de la réaction et sa régénération par une époxide-réductase et une NADPH-quinone-réductase, appelée aussi diaphorase, est nécessaire à la poursuite de la réaction.
 - La réduction fait intervenir des groupes "thiol". Les antivitamines K (AVK) inhibent la régénération de la vitamine K réduite [11].

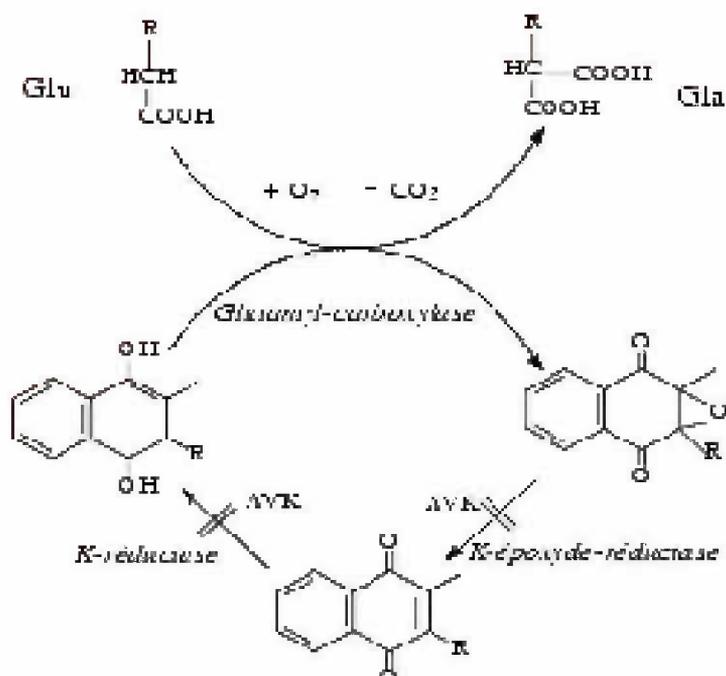


Figure 9 : Représentation schématique de la formation de la vitamine K quinone.

NB :

- ✓ La vitamine K peut exister sous trois formes : oxydée, réduite et semiquinone qui est un radical libre. Les vitamines K peuvent manifester des propriétés soit pro-oxydantes, soit anti-oxydantes, en fonction des conditions.
- ✓ Site d'action de la vitamine K et de ses antagonistes.

➤ La vitamine K intervient après la traduction pour rendre fonctionnelles

Les protéines suivantes [10] :

- Protéines plasmatiques de la coagulation:
 - Facteurs de coagulation: II, VII, IX, X.
 - Inhibiteurs de la coagulation: Protéines C, S.
- Protéines des tissus minéralisés:
 - Matrix Gla-protéine: prévention de la calcification des artères et des cartilages.
 - Ostéocalcine : formation de l'os.

- Protéines transmembranaires riches en Pro: RGP1, PRGP2, TMG3, TMG4 : fonction inconnue.

La dénomination, le lieu de synthèse et la demi-vie différents facteurs plasmatiques de la coagulation sont rassemblés dans le tableau1.

Tableau 1 : caractéristiques des différentes protéines plasmatiques de la coagulation.

| | Dénomination | Lieu de synthèse | Demi-vie (en heures) |
|--------------------|--------------------------------------|-------------------|----------------------|
| Facteurs | | | |
| I | Fibrinogène | Foie | 100-150 |
| II | Prothrombine | Foie + vitamine K | 50-120 |
| V | Proaccéléline | Foie | 12-36 |
| VII | Proconvertine | Foie + vitamine K | 4-6 |
| VIII | Facteur anti-hémophilique A | Foie | 10-16 |
| IX | Facteur anti-hémophilique B | Foie + vitamine K | 24 |
| X | Facteur Stuart | Foie + vitamine K | 36-48 |
| XI | Facteur Rosenthal ou PTA | Foie | 40-80 |
| XII | Facteur Hageman | Foie | 50-70 |
| XIII | Facteur stabilisant de la fibrine | Foie | 150-300 |
| PK | Prékallicréine = facteur Fletcher | | 35 |
| KHPM | Kininogène de haut poids moléculaire | | 150 |
| Inhibiteurs | | | |
| ATIII | Antithrombine III | Foie | 50-70 |
| PC | Protéine C | Foie + vitamine K | 6-8 |
| PS | Protéine S | Foie + vitamine K | ND |
| ND = non déterminé | | | |

▪ Caractéristiques pharmacocinétiques :

- ✓ La vitamine K, chez l'homme, provient de l'alimentation (végétaux) et de la synthèse intestinale par la flore bactérienne. Les besoins sont de l'ordre de 50 à 100 microgrammes par jour chez l'adulte.
- ✓ L'absorption digestive de la vitamine K nécessite la présence de sels biliaires et pancréatiques.

- ✓ Absorbée avec les chylomicrons, elle est libérée par le foie, s'associe aux VLDL (very low density lipoproteins) et est distribuée aux tissus par les LDL (low density lipoproteins).

- ✓ Le tissu le plus riche en vitamine K est le foie [28].

d. L'Antivitamine K ou AVK :

L'origine de la découverte des AVK a été l'observation aux Etats-Unis et au Canada vers 1930 d'hémorragies dans des troupeaux de bétail ayant consommé du trèfle doux (mélilot) avarié qui contenait de la bishydroxycoumarine. Celle-ci s'est avérée avoir une activité AVK.

Les AVK actuellement utilisés en thérapeutique sont la warfarine, l'acénocoumarol et la fluindione. Le tiocloमारol (Apegmone) et la phénindione (Pindione) ne sont plus commercialisés en France depuis début 2004.

Les AVK sont classées en fonction de leur structure chimique en dérivés coumariniques (acénocoumarol, tiocloमारol, warfarine) et en dérivés de l'indane-dione (phénindione, fluindione) [12].

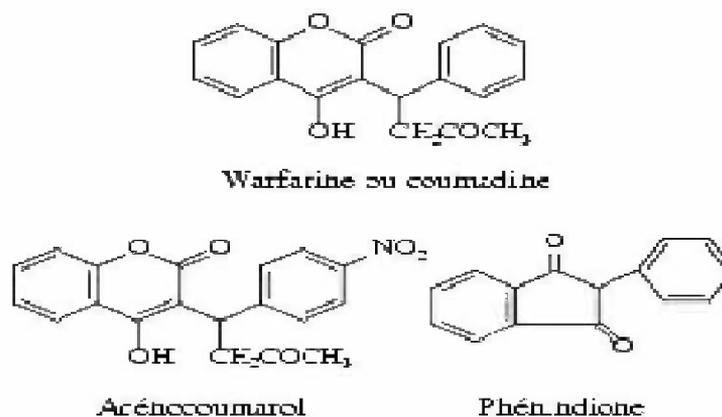


Figure 10 : Les trois structures chimiques de l'antivitamine k.

❖ Effet anticoagulant de l'antivitamine k :

L'action anticoagulante des antivitamines K présente trois caractéristiques essentielles :

- Elle ne se manifeste qu'in vivo. Ajoutés au sang in vitro, les AVK ne modifient pas la coagulation.
- Elle n'apparaît qu'après un temps de latence d'environ 24 heures, même après administration intraveineuse et atteint son maximum vers le deuxième jour.
- Elle persiste plusieurs jours après l'arrêt du traitement [11].

❖ Caractéristiques pharmacocinétiques :

Les AVK s'administrent par voie orale, leur absorption digestive est bonne, mais elle peut être diminuée par l'administration simultanée de topiques digestifs et de cholestyramine.

Dans le plasma, 90 à 97% des AVK sont fixés aux protéines plasmatiques. Certains autres médicaments peuvent déplacer les AVK de leur site de fixation, ce sont l'aspirine à dose élevée, les anti-inflammatoires non stéroïdiens qui ont aussi des effets directs sur la coagulation.

Les conséquences de ces déplacements sont en fait difficiles à prévoir, car la concentration de la forme libre des AVK est augmentée en même temps que leur catabolisme est accéléré.

Les interactions principales sont dues à l'effet des médicaments qui agissent eux-mêmes sur la coagulation : aspirine, ticlopidine, anti-inflammatoires non stéroïdiens, qui augmentent les effets des AVK, et estroprogestatifs qui les diminuent [21].

Légende :

-----> Indique l'activation d'un facteur.

-—————▶ Indique un effet agoniste d'un facteur sur l'autre ou un effet Agoniste sur l'activation d'un facteur.

- Les autres facteurs intervenant dans la voie sont indiqués à côté des flèches Pleines ; en gras les agonistes et en italique les antagonistes.

- VII, VIII, X, XI, XII = facteur VII, VIII, X, XI, XII (a = activé).

- TAFI = Inhibiteur de la Fibrinolyse Activé par la Thrombine.

- HWK-kininogène = kininogène de haut poids moléculaire.

II. 2. 2. La voie extrinsèque de la coagulation :

La voie extrinsèque de la coagulation nécessite la présence du facteur tissulaire (ou facteur III) qui est libéré par les tissus lésés.

La libération de cette substance permet alors l'activation du facteur VII. En se complexant avec le facteur III et le calcium, le facteur VIIa permet l'activation du facteur X (Figure 7) [28].

La suite de la coagulation correspond à une voie commune suite à l'activation du facteur X.

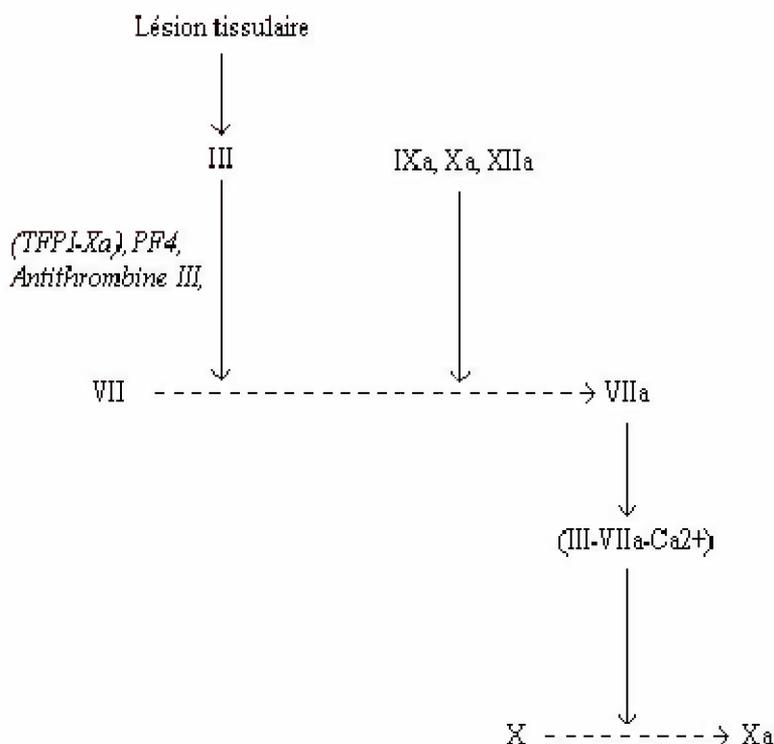


Figure 12 : La voie extrinsèque de la coagulation.

Légende :

- - - - - > Indique l'activation d'un facteur.

- ———▶ Indique un effet agoniste d'un facteur sur l'autre ou un effet Agoniste sur l'activation d'un facteur.

- Les autres facteurs intervenant dans la voie sont indiqués à côté des flèches Pleines ; en gras les agonistes et en italique les antagonistes.

- VII, VIII, X, XI, XII = facteur VII, VIII, X, XI, XII (a = activé).
- TAFI = Inhibiteur de la Fibrinolyse Activé par la Thrombine.
- HWK-kininogène = kininogène de haut poids moléculaire
- TFPI = *Tissue Factor Pathway Inhibitor*

II. 2. 3. La voie commune de la coagulation :

La voie commune de la coagulation permet la formation de fibrine à partir du facteur Xa [28].

Suite à l'activation du facteur Xa, la prothrombine est transformée en thrombine par l'action du complexe prothrombinase.

La thrombine permet alors la formation de fibrine à partir du fibrinogène.

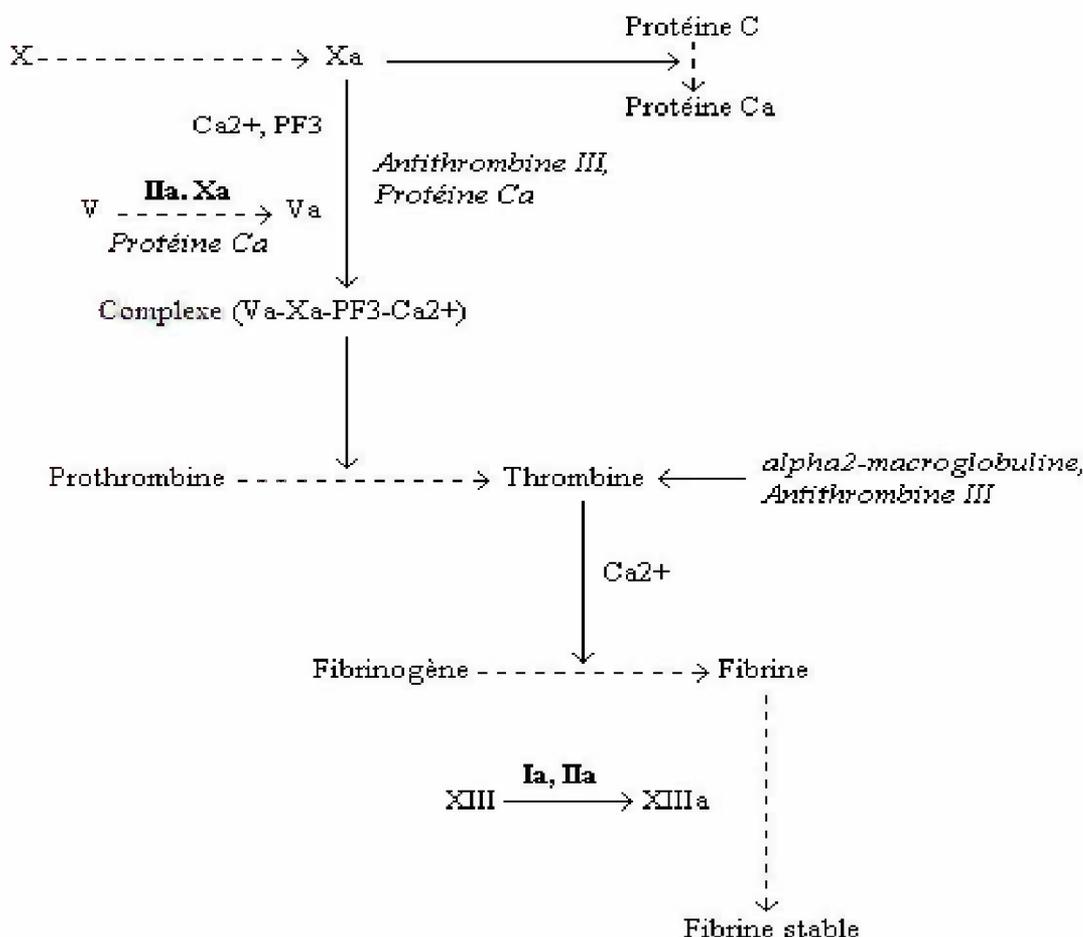


Figure 13 : La voie commune de la coagulation.

Légende :

-----> Indique l'activation d'un facteur.

- ———> Indique un effet agoniste d'un facteur sur l'autre ou un effet Agoniste sur l'activation d'un facteur.

-Les autres facteurs intervenant dans la voie sont indiqués à côté des flèches Pleines ; en gras les agonistes et en italique les antagonistes.

- VII, VIII, X, XI, XII = facteur VII, VIII, X, XI, XII (a = activé).
- TAFI = Inhibiteur de la Fibrinolyse Activé par la Thrombine.
- HWK-kininogène = kininogène de haut poids moléculaire.

II.3. La Fibrinolyse :

La fibrinolyse consiste en la dissolution des caillots intravasculaires par la plasmine. Par ce mécanisme, elle débarrasse la circulation des déchets de fibrine et facilite la reperméabilisation des vaisseaux obstrués par des caillots de fibrine.

La plasmine, appelée aussi fibrinolysine, est une protéase de 560 acides aminés qui hydrolyse la fibrine en fragments appelés produits de dégradation de la fibrine mais elle hydrolyse également le fibrinogène et d'autres facteurs de la coagulation. La plasmine provient de l'hydrolyse du plasminogène au niveau d'un résidu arginine [21].

Le plasminogène est une glycoprotéine de 791 acides aminés, d'origine hépatique, présent dans le plasma, inactif par lui-même, bien que se fixant sur la fibrine.

Le t-PA (tissue-plasminogen activator) libéré par les cellules endothéliales et l'urokinase, u-PA (urokinase-plasminogen activator), provenant de la pro-urokinase, activent la transformation du plasminogène en plasmine.

La libération de ces activateurs est stimulée par les dépôts de fibrine et par la thrombine. Le t-PA se fixe préférentiellement à la fibrine qui est présente au niveau du caillot et peu au plasminogène qui est présent dans le plasma alors que l'urokinase a peu d'affinité pour la fibrine ; ceci explique la spécificité d'action du t-PA. Par ailleurs, l'urokinase est présente à la surface des cellules néoplasiques et favorise leur pouvoir invasif et métastatique.

Il existe des inhibiteurs endogènes du t-PA et de l'u-PA appelés PAI (plasminogen activator inhibitor) qui, en inhibant les activateurs, réduisent la transformation du plasminogène en plasmine et donc l'activité fibrinolytique. Les estrogènes, administrés après la ménopause, réduiraient la concentration plasmatique de cet inhibiteur et augmenteraient la capacité fibrinolytique [21].

II. 4. LA Physiopathologie :

II. 4.1. Troubles de la coagulation :

Bien que le concept voie extrinsèque et intrinsèque soit quelque peu dépassé (il y a une voie principale, celle commençant par le facteur tissulaire et le facteur VII), il est commode pour des raisons didactiques et aussi vu les tests employés *in vitro* de séparer les maladies selon les deux voies.

II.4.1.1. Maladies de la voie intrinsèque :

• Hémophilie :

Sur le plan biologique cette maladie se caractérise par un déficit en facteur antihémophilique A (facteur VIII) ou B (facteur IX), permettant de différencier respectivement l'hémophilie A et l'hémophilie B [29].

Ces déficits sont mis en évidence par les dosages spécifiques de ces deux facteurs de coagulation.

L'hémophilie A est 4 à 5 fois plus fréquente que l'hémophilie B. L'hémophilie (A et B) a une fréquence estimée à 1 pour 10 000 habitants [29].

Ces deux maladies sont héréditaires, transmises de façon récessive liée au sexe, c'est-à-dire n'atteignant en principe que les garçons et transmises par les femmes apparemment saines mais conductrices de l'anomalie. Cliniquement, les hémophiles souffrent d'hémorragies importantes, souvent spontanées, comme des hématomes musculaires, des hémorragies cérébrales et le plus fréquemment des saignements dans les articulations (= hémarthroses), principalement localisés aux genoux, chevilles et coudes et qui entraînent à long terme de graves séquelles orthopédiques [30].

La précocité et la gravité des hémorragies perturbant la vie d'un hémophile dépendent directement de l'importance du déficit en facteur VIII ou IX.

On sépare les hémophilies en différentes catégories selon l'importance de leur déficit :

- 1) Sévère < 1%
- 2) Modérée 1-5%
- 3) Légère 5%-30%

Cette classification est importante pour la prise en charge de ces patients [30].

II. 4.1. 2. Maladies de la voie extrinsèque :

❖ Maladies acquises :

Les deux principaux groupes de maladies acquises sont :

- a) les maladies entraînant une carence en vitamine K (vit K)
- b) les insuffisances hépatiques.

Si dans le premier groupe, seule l'activité des facteurs vit K dépendants (II, VII, IX, X) est touchée, dans le deuxième on observe une diminution globale non sélective de l'activité des facteurs synthétisés par le foie [17].

Toutes les maladies interférant avec le cycle normal du vit K peuvent entraîner un état carenciel.

Le vit K est apporté pour les 2/3 par l'alimentation, le reste étant synthétisé par la flore intestinale. Elle est absorbée en majorité dans l'intestin grêle en présence de sels biliaires et elle atteint le foie par le système porte.

Ainsi, des carences en vit k peuvent s'observer lors de manque d'apport alimentaire, d'anomalies du transit intestinal, d'ictère obstructif ou de la prise de certains médicaments.

L'insuffisance hépatique fonctionnelle peut s'expliquer par une atteinte primaire du foie, par un processus tumoral, une hépatite ou une cirrhose [31].

Chapitre III

III. LES MÉCANISMES DE LA COAGULATION :

III.1. LES FACTEURS DE LA COAGULATION :

III.1.1. Caractéristiques :

La dénomination, le poids moléculaire et la concentration des différents facteurs plasmatiques de la coagulation sont rassemblés dans le tableau2.

Tableau 2 : caractéristiques des différents facteurs de la coagulation [32].

| N° ou abrev. | Dénomination | Poids moléculaire (kDa) | Concentration plasmatique (mg/L) | Concentration plasmatique ($\mu\text{mol/L}$) | Fonction |
|--------------|--|-------------------------|----------------------------------|---|-----------|
| I | Fibrinogène | 340 | 2500 | 7,35 | Substrat |
| II | Prothrombine | 63 | 150 | 2,38 | Zymogène |
| V | Proaccélérine | 350 | 10 | $2,86 \cdot 10^{-2}$ | Cofacteur |
| VII | Proconvertine | 45 | 0,5 | $1,11 \cdot 10^{-2}$ | Zymogène |
| VIII | Facteur antihémophilique A | 290 | 0,2 | $6,90 \cdot 10^{-4}$ | Cofacteur |
| IX | Facteur antihémophilique B | 60 | 3 | $5,00 \cdot 10^{-2}$ | Zymogène |
| X | Facteur Stuart | 55 | 15 | $2,73 \cdot 10^{-1}$ | Zymogène |
| XI | Facteur Rosenthal | 165 | 5 | $3,03 \cdot 10^{-2}$ | Zymogène |
| XII | Facteur Hageman | 80 ^[2] | 30 | $3,75 \cdot 10^{-1}$ | Zymogène |
| XIII | Facteur de stabilisation de la fibrine | 320 | 20 | $6,25 \cdot 10^{-2}$ | Zymogène |
| PK | Prékallicroïne | 88 | 50 | $5,68 \cdot 10^{-1}$ | Zymogène |
| KHPM | Kininogène de haut poids moléculaire | 120 | 80 | $6,67 \cdot 10^{-1}$ | Cofacteur |

III .1.2. Mode de synthèse :

Les facteurs de la coagulation sont des protéines le plus souvent synthétisées dans le foie.

La synthèse des facteurs II, VII, IX et X nécessite le concours de la vitamine K. Elle se déroule en deux étapes :

- ❖ La première étape aboutit à la production d'un précurseur inactif biologiquement.
- ❖ La deuxième étape voit l'intervention de la vitamine K comme cofacteur d'une réaction de carboxylation. Cette transformation confère aux protéines leur activité biologique du fait de la transformation de certains résidus d'acide glutamique (GLU) en acide γ -carboxyglutamique (GLA).

Les GLA situés dans la région aminoterminal e contièrent à ces protéines la propriété de Fixer les ions calcium et de se lier aux phospholipides chargés négativement [32].

III .1. 3. Fonctions :

Au plan fonctionnel, les facteurs de la coagulation appartiennent à différents groupes selon qu'ils sont des zymogènes, des cofacteurs des réactions enzymatiques ou, comme le fibrinogène, un simple substrat.

Les zymogènes sont des protéines capables d'acquérir une activité enzymatique.

Ainsi, la prékallicroïne et les facteurs II, VII, IX, X, XI et XII sont des zymogènes de sérine protéases, tandis que le facteur XIII est le zymogène d'une transglutaminase.

Ils ont tous une structure similaire avec des homologies dans les Régions aminoterminales et au niveau des sites catalytiques.

Les régions aminotermiales comportent des structures qui permettent aux zymogènes des interactions protéine/protéine ou protéine/surface qui amplifient considérablement le processus de leur activation.

Les régions carboxyterminales portent les éléments du site actif. La transformation Des zymogènes en enzymes actives sont obtenue par scission sélective d'une ou deux Liaisons peptidiques qui démasquent le site catalytique [33].

Ce dernier est composé d'une sérine, d'une histidine et d'un acide aspartique.

Le KHPM, le facteur V et le facteur VIII sont des cofacteurs de réactions enzymatiques. Ils augmentent 10^4 à 5.10^5 fois la vitesse d'activation du Substrat par l'enzyme grâce à des interactions protéine/protéine ou protéine/surface, permettant la formation de complexes enzyme-cofacteur-substrat sur des surfaces chargées négativement.

III. 2. LES MÉCANISMES DE LA COAGULATION :

La coagulation se déroule en trois étapes (figure 14) :

- Génération de prothrombinase: c'est la formation du complexe activateur de la prothrombine. Elle se fait selon deux voies: extrinsèque, faisant appel à un facteur étranger au sang : la thromboplastine tissulaire, et intrinsèque. Nécessitant Uniquement le concours de facteurs plasmatiques et plaquettaires.
- Thrombinoformation : il s'agit de la transformation de la prothrombine en thrombine.
- Fibrinoformation : il s'agit de la transformation du fibrinogène en fibrine.

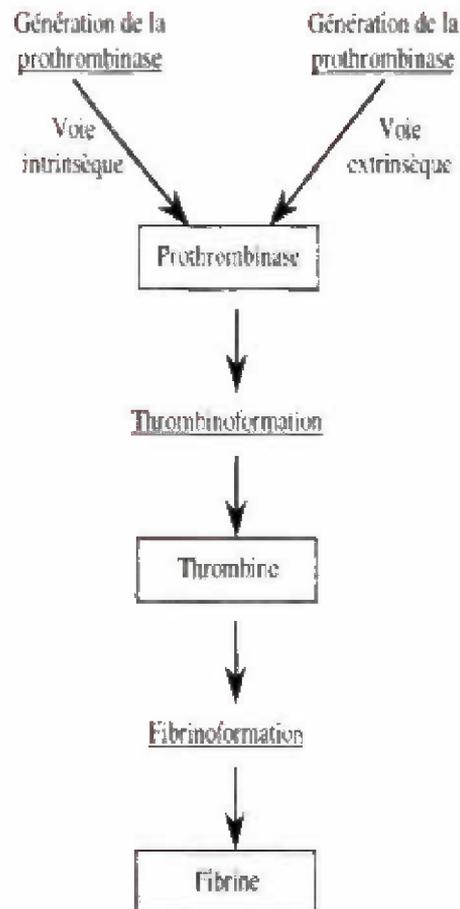


Figure 14 : Schéma de la coagulation dit en Y avec ses trois étapes essentielles [34].

Différentes théories se sont succédé pour expliquer précisément les mécanismes de la coagulation sanguine. Elles ne sont pas contradictoires et chacune permet d'aborder un aspect de ce phénomène si complexe.

- La théorie de la cascade enzymatique implique que les facteurs de la coagulation sont inactifs dans le sang et subissent une activation dans un ordre déterminé. Ainsi, chaque facteur activé entraîne à son tour l'activation d'un ou plusieurs autres facteurs. Cette conception explique l'amplification progressive des réactions enzymatiques et le caractère auto catalytique du processus.

➤ La théorie des complexes implique l'activation des facteurs de la coagulation. Après leur fixation à la surface de micelles phospholipidiques, lesquelles jouent un rôle de catalyseur. Cette conception rend bien compte du caractère "localisé" de la réaction de coagulation: les facteurs activés se retrouvent concentrés à la surface qui les protège des inhibiteurs physiologiques présents dans le sang.

➤ Zur et Nemerson donnent une importance prépondérante au facteur tissulaire (Ft) et au facteur VII par le fait que le complexe Ft-VIIa active non seulement le facteur X mais aussi le facteur IX [33].

La figure 10 propose une représentation des mécanismes de la coagulation sanguine, mettant en valeur les deux voies d'initiation (intrinsèque et extrinsèque) et la notion de complexes enzymatiques fixés à une surface.

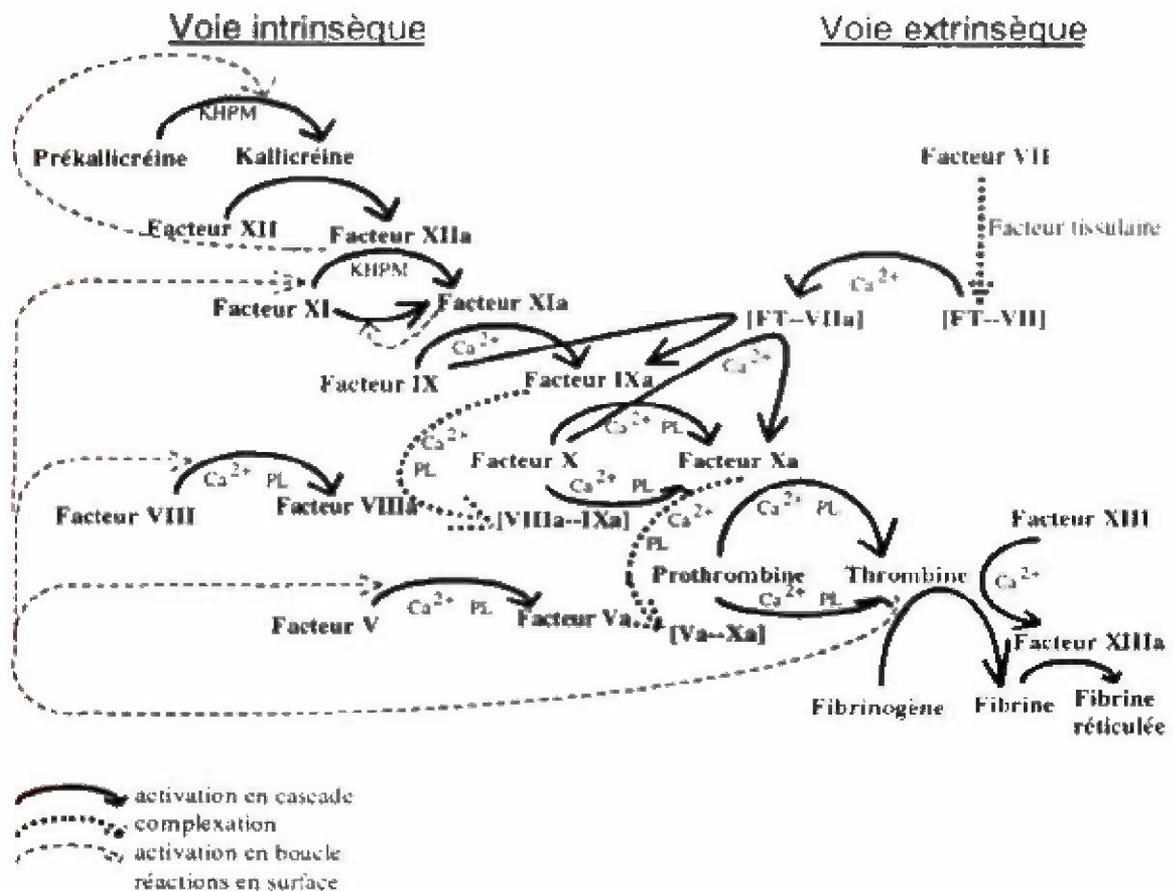


Figure 15 : Représentation des mécanismes de la coagulation sanguine.

Bien que la thrombine et le facteur Xa soient considérés comme étant les principaux activateurs des cofacteurs V et VIII, leur importance relative lors de l'hémostase in vivo est sujette à controverse.

Ainsi, en milieu purifié, le taux d'activation du facteur V par le facteur Xa et par la thrombine sont du même ordre de grandeur. Mais en milieu plasmatique recalcifié et mis en présence de facteur tissulaire. La thrombine est l'unique activateur du facteur V.

En milieu purifié. Le facteur VIII peut aussi être activé par le facteur Xa, mais à une vitesse d'activation inférieure à celle observée lors d'une activation par la thrombine [35].

En revanche, en milieu plasmatique, le facteur Xa a un effet mineur sur l'activation du facteur VIII.

III. 2.1 . LA VOIE INTRINSÈQUE DE LA COAGULATION

III. 2.1.1. LA PHASE CONTACT

III - 2 -1-1-1- Mécanismes d'activation

III - 2 -1-1-1- Généralités

Quand le plasma est exposé in vitro à des surfaces chargées négativement (verre, kaolin, etc.) ou à des micelles (sulfatides), ainsi qu'in vivo au sous-endothélium Vasculaire et à la membrane des plaquettes activées, quatre protéines plasmatiques: la prékallicroïne, le KHPM, les facteurs XI et XII, interagissent dans une série de réactions désignées comme "réactions du système contact" pour aboutir à la formation du facteur XI activé (XIa) [32].

Les déficits d'origine génétique en facteur XII, prékallicroïne ou KHPM entraînent des anomalies de la coagulation uniquement in vitro et non in vivo. En

revanche, un déficit en facteur XI est associé à des tendances hémorragiques modérées *in vivo* [36].

Le schéma de l'activation du système contact est représenté dans la figure 16.

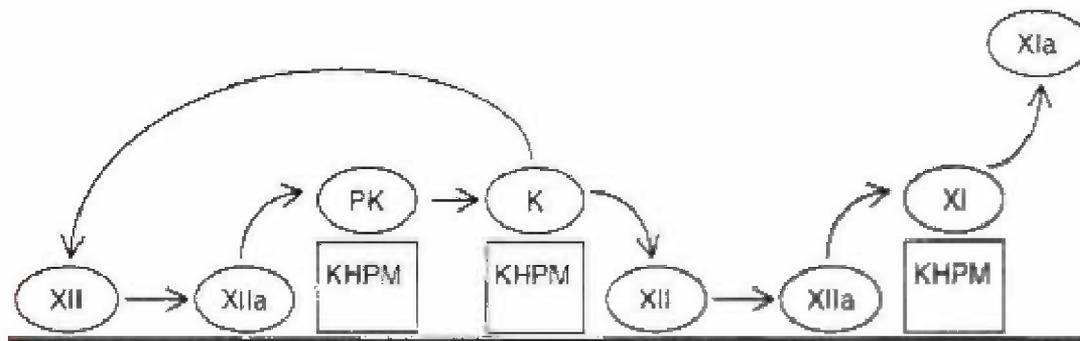


Figure 16 : Schéma du mécanisme d'activation de la phase contact [44].

L'origine des premières molécules d'enzymes responsables de l'amplification du système contact en milieu plasmatique reste encore inexpliquée. Quatre hypothèses ont été émises:

- Le facteur XII et la prékalliceréine sont des zymogènes possédant par eux-mêmes une faible activité enzymatique. En s'adsorbant sur la surface, ils génèrent Les premières molécules d'enzymes actives [37, 38,39].
- Le facteur XII, une fois fixé sur la surface, devient procoagulant par association avec son substrat naturel : la prékalliceréine. Il en résulte une expression de l'activité protéolytique distincte du facteur XIIIa [40, 41,42].
- De faibles quantités d'enzymes actives (facteur XIIIa et/ou kalliceréine) circulent dans le plasma. Ces enzymes seraient responsables de l'activation des zymogènes sur la surface procoagulante [37, 38,43].

- Une autre enzyme, étrangère au système contact, l'initierait par un mécanisme encore inconnu [44]. Très récemment, des études ont montré que la prékallicroïne pouvait être activée *in vivo* par une protéase non identifiée présente dans les Cellules endothéliales. Cette activation a lieu après fixation de la prékallicroïne sur la membrane cellulaire via le KHPM, et ce indépendamment de la présence de facteur XII ou XIIa.

Il semble se dégager qu'*in vivo*, le système contact est déclenché par une protéolyse de la prékallicroïne sur les cellules endothéliales, alors qu'*in vitro*, l'amorce se fait par un changement conformationnel du facteur XII suite à sa fixation sur une surface chargée négativement [45].

Le facteur XIIa ainsi présent active les complexes KHPM-PK et KHPM-XI en KHPM-K et KHPM-XIa (figure 11). Une fois activée, la kallicroïne quitte majoritairement la surface pour être relarguée en solution.

C'est une phase clé dans la dissémination et l'activation de la phase contact. Après incubation de plasma avec du kaolin, 85% de la kallicroïne est transférée en solution [46].

La kallicroïne libérée modifie le KHPM ce qui facilite l'adsorption des complexes KHPM-PK Et KHPM-XI. Mais surtout, elle amplifie la boucle de l'activation en interagissant avec de nouvelles molécules de facteur XII adsorbées, créant ainsi de nouveaux sites actifs.

L'activation en boucle de la prékallicroïne et du facteur XII se divise en trois étapes [46] :

- ✓ Activation réciproque de quelques molécules de facteur XII et de prékallicroïne sur la surface où le KHPM joue le rôle de cofacteur.
- ✓ Relargage rapide de la kallicroïne depuis la surface dans la solution et poursuite de la conversion de la prékallicroïne en kallicroïne.
- ✓ Activation par la kallicroïne en solution des molécules de facteur XII liées à la surface.

III. 2 .1.1.2. Activation du facteur XII :

En milieu plasmatique, le facteur XII est essentiellement activé par la kallibréine. Cette activation est stimulée par la présence de surfaces chargées Négativement et de KHPM [37,47].

L'adsorption du facteur XII entraîne un changement conformationnel le rendant plus apte au clivage par la kallibréine (figure 12) [37].

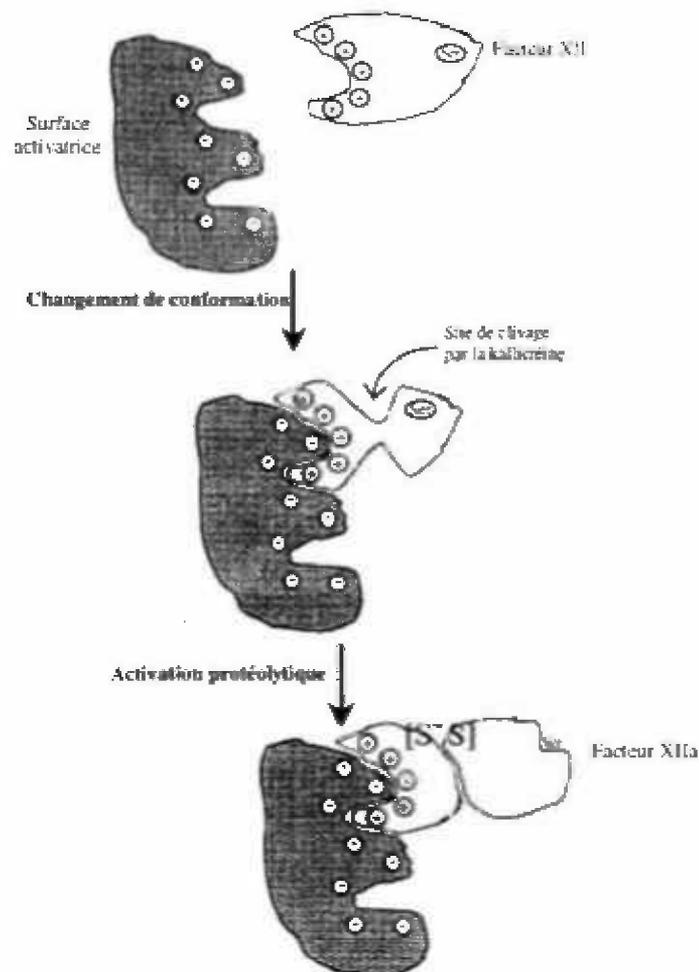


Figure 17 : Mécanisme d'activation du facteur XII [37].

Le mécanisme d'activation du facteur XII nécessite deux étapes [44]:

- Liaison du facteur XII à la surface, ce qui le rend plus apte au clivage protéolytique.
- Liaison de la kallikréine à la surface, ce qui facilite son interaction avec le facteur XII immobilisé et contribue à former des complexes productifs enzyme-substrat.

Lors de cette activation, le facteur XII subit un premier clivage qui est une protéolyse interne (cf. figure 18).

L'enzyme active qui en résulte est le facteur XIIa α , composé d'une chaîne lourde (52 kDa) comportant le site d'adsorption aux surfaces, reliée par un pont disulfure à une chaîne légère (28 kDa) comportant le site catalytique [44].

Le facteur XIIa α reste donc adsorbé à la surface, où il active la prékallikréine et le facteur XI [38].

Le facteur XIIa α peut subir un second clivage dans la chaîne lourde, lui ôtant son site d'adsorption aux surfaces. Il en résulte le facteur XIIa β qui, relarguée en solution, peut toujours activer la prékallikréine mais beaucoup moins le facteur XI [38].

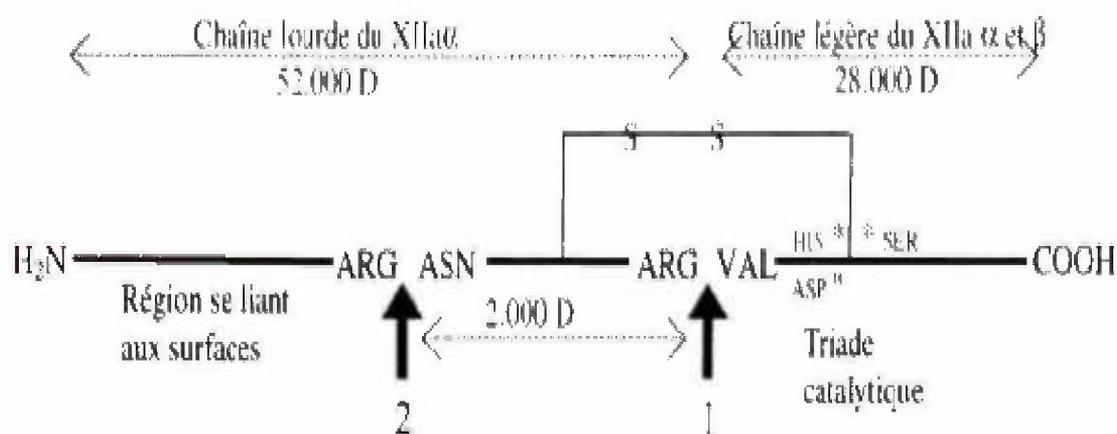


Figure 18 : Modèle schématique du facteur XII [38].

III.2.1.1.3. Activation de la prékallikréine :

La prékallicroéine est activée par le facteur XIIIa avec rupture d'une liaison peptidique [39] (figure19). L'activation est catalysée par la présence de surfaces chargées négativement et de KHPM [46,48].

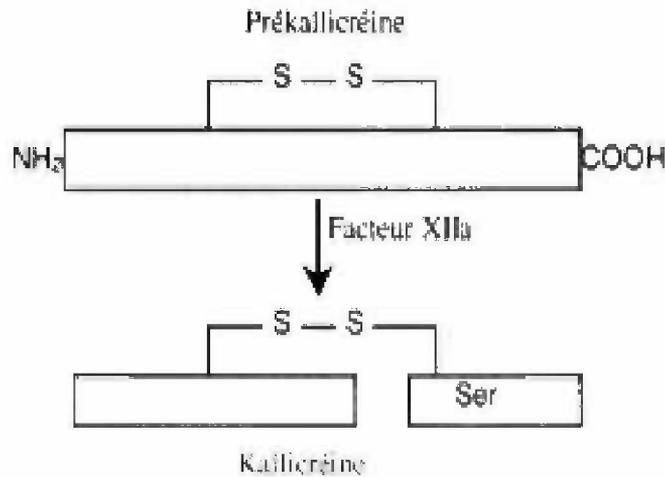


Figure 19: Mécanisme d'activation de la prékallicroéine [49].

III. 2 .1.1.4. Activation du facteur XI :

Le facteur XI est activé par le facteur XIIIa. Cette activation ne nécessite pas la Présence d'ions calcium et ne s'accompagne pas d'une fragmentation de la molécule mais d'une modification de la conformation moléculaire, résultat d'une protéolyse Interne (figure20) [49].

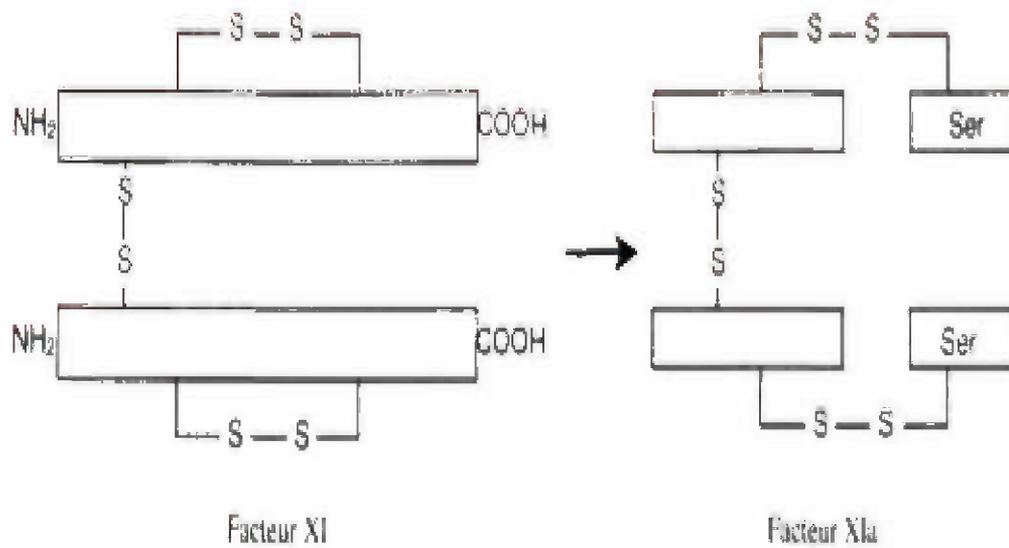


Figure 20: Mécanisme d'activation du facteur XI [49].

Dans le plasma, le facteur XI circule complexé au KHPM [46], ce qui est nécessaire pour qu'il puisse se fixer à une surface.

L'activation du facteur XI par le facteur XIIa se fait en présence de KHPM et de surfaces chargées négativement [46,50,51].

90% du facteur XIa reste alors en surface [46].

III .2 .1 .2 . Interaction de la phase contact avec les autres systèmes biologiques :

Les interactions entre la phase contact et les autres systèmes biologiques sont nombreuses et complexes, reflétant ainsi l'importance des conséquences de son activation, non seulement envers la coagulation, mais aussi pour la fibrinolyse, le complément, l'inflammation, etc.

La description qui suit ne donne qu'un aperçu de ces interactions. Pour plus de détails, et notamment les interactions cellulaires, on pourra se reporter aux revues de Colman et al [36, 52,53].

III - 2 -1-2-1- Avec la voie extrinsèque de la coagulation :

Les interactions entre la phase contact et la voie extrinsèque de la coagulation ont été mises en évidence par le raccourcissement du temps de Quick mesuré dans un tube en verre par rapport à celui mesuré dans un tube en plastique. Ceci est dû à l'activation du facteur VII par le facteur XIIa β [36].

Cette activation s'observe surtout à basse température (durant le stockage par exemple), chez les femmes sous contraception orale ou en fin de grossesse [54,55].

En effet, le froid inactive le C1-inhibiteur et favorise l'activation du facteur XII au contact d'une surface. Quant aux contraceptifs, ils entraînent une hausse de la quantité plasmatique En facteur XII et une baisse de celle en C1-inhibiteur.

III. 2 .1.2.2. Avec la fibrinolyse :

La fibrinolyse est le processus de dégradation de la fibrine.

L'activation de la fibrinolyse se fait par trois voies aboutissant toutes à l'activation du plasminogène en plasmine, enzyme dégradant la fibrine.

Les protéines de la phase contact semblent intervenir dans chacune de ces trois voies (cf. figure 21), de façon directe ou indirecte. Même si les mécanismes ne sont pas encore entièrement élucidés.

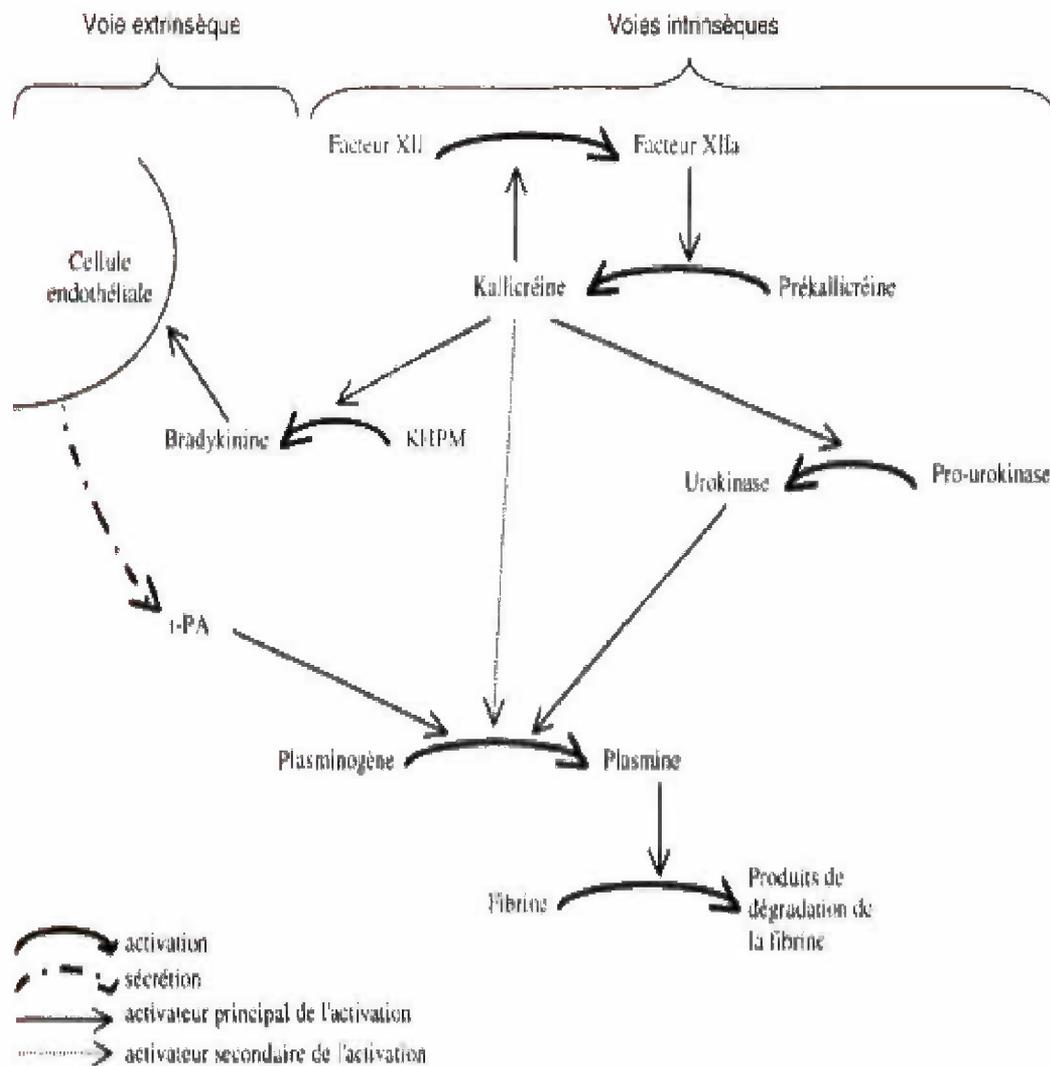


Figure 21 : Les trois voies d'activation de la fibrinolyse, à partir du schéma proposé par Kluff et al [56].

1. Voie extrinsèque. Le plasminogène y est activé par le t-PA (activateur tissulaire du plasminogène).

Le t-PA est continuellement sécrété à faible débit par les cellules endothéliales. Mais cette libération peut être stimulée par la bradykinine qui est produite par action de la kallibréine sur le KHPM, deux protéines de la phase contact [56].

Ce mécanisme semble être confirmé *in vivo* par les travaux de Jansen et al [57]. Qui observent une diminution de la quantité de t-PA sécrété en cas d'inhibition du facteur XII par un anticorps spécifique. Cette étude a été menée chez des babouins subissant un choc toxique, ce qui déclenche habituellement l'activation de la fibrinolyse.

2. Voie intrinsèque, activation directe.

Les enzymes de la phase contact, principalement la kallibréine, peuvent directement activer le plasminogène tout en étant bien moins efficaces que le t-PA ou l'urokinase, ce qui laisse supposer que ce mécanisme ne prédomine pas *in vivo* [58].

3. Voie intrinsèque, activation indirecte.

Hauert et al. ont montré que la kallibréine active la pro-urokinase dans des fractions plasmatiques, Loza et al [59]. Ainsi que Gurewich et al [60]. Mettent en avant le rôle des plaquettes qui fixent la prékalibréine et la pro-urokinase. Sous l'effet du facteur XIIa, la kallibréine formée initie ainsi *in situ* la fibrinolyse. Motta et al [61].

Ainsi que Lenich et al [62]. Aboutissent au même mécanisme à la surface de cellules endothéliales.

Les références de la recherche bibliographique :

- [1] Yassin N., Semaan A., marc E., Jacky S.,(2012).Local hemostasis in oral surgery. Part 1: physiology of hemostasis, 19: 119-127.
- [2] Stepanian A., Biron-Andreani C., (2011). Exploration de l'hémostase primaire. Ann Biol Clin, 59:725-35.
- [3] Véricel E., Januel C.; Carreras M., Moulin P., Lagarde M. (2004). Diabetic Patients without Vascular Complication Display Enhanced Basal Platelet Activation and Decreased Antioxidant Status. Diabetes, 53:1046-1051.
- [4] Davi G., Patrono C., (2007) .Platelet activation and atherombosis. N Engl J Med, 357:2482-2494.
- [5] Hoffman M., Monroe D.M., (2007).Coagulation 2006: A Modern View of Hemostasis. Hematology /Oncology clinics of North America.
- [6] Benzeaud A., Guillin M.C., Fischer A.M., (2007). Troubles de l'hémostase et de la coagulation: orientation diagnostique.Rev Part, 57(3) :327-35.
- [7] Baglin T., Gray E., Greaves m., Hunt B.J., Keeling D., Machin s., et al., (2010). Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia.Br J Haematol, 149:209-20.
- [8] MARCUS A.J., BROEKMAN M.J., DROSOPOULOS J.H.F., ISLAM N., ALYONYCHEVAT.N, SAFIER L.B. et al. The endothelial cell ecto-ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39. J. Clin. Invest. , 2007, 99(6), 1351-1360.
- [9] HALL D.E. The haemostatic mechanism and its components in the dog. In: Blood coagulation and its disorders in the dog. Baltimore: Williams and Wilkins, 1972, 1-33.
- [10] HECQUET D. Troubles de l'hémostase chez le chat : étude bibliographique. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 2009, n°50, 180 p.
- [11] NICOLAS M. In : Hémato web, l'hématologie en ligne! [En ligne] Consultée le 07 décembre 2008.
- [12] BOUVIER C. Les troubles héréditaires de l'hémostase primaire dans l'espèce canine. Etude expérimentale d'une thrombopathie chez le Bouvier bernois. Thèse Méd. Vét., Lyon, 2004, n°26, 168 p.
- [13] CATALFAMO J.L., DODDS W.J. Hereditary and acquired thrombopathias. Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract., 2008, 18 (1), 185-193.
- [14] BROOKS M.B., CATALFAMO J.L., BROWN A., IVANOVA P., LOVAGLIO J. A hereditary bleeding disorder of dogs caused by a lack of platelet procoagulant activity. Blood, 2002, 99, 2434-2441.
- [15] JOHNSTONE I.B., LOTZ F. An inherited platelet function defect in Basset hounds. Can. Vet J., 2009, 20, 211-215.

Les références de la recherche bibliographique

- [16] GUELFY J.F., DIQUELOU A. L'exploration biologique de l'hémostase chez le chien. *Point Vét.*, 2004-2005, 26 (164), 755-759.
- [17] GUELFY J.F., DIQUELOU A. L'hémophilie A du chien. *Point Vét.*, 2006, 28, 505-508.
- [18] GOREE M., CATALFAMO J.L., ABER S., BOUDREAUX M.K. Characterization of the mutations causing hemophilia B in 2 domestic cats. *J. Vet. Inter. Med.*, 2005, 19, 200-204.
- [19] DARGHOUTH D., HALLGREN K.W., SHTOFMAN R.L., MRAD A., GHARBI Y., MAHERZI A. et al. Compound heterozygosity of novel missense mutations in the gamma-glutamyl-carboxylase gene causes hereditary combined vitamin K dependent coagulation factor deficiency. *Blood*, 2006, 108, 1925-1931.
- [20] DODDS W.J., BROOKS M.B., CATALFAMO J., ERB H., STOKOL T. Responses to von Wille brand factor study. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2006, 209(11), 1238-1240.
- [21] FOGH J.M., FOGH I.T. Inherited coagulation disorders. *Vet. Clin. NorthAm. Small.Anim. Pract.*, 2008, 18(1), 231-242.
- [22] PONS P. Exploration de la coagulation plasmatique chez le chien : essai du SCA 2000. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 2002, n°58, 41 p.
- [23] CHURCH F.C. Brief overview of thrombin. In: University of North Caroline at Chapel Hill –Laboratory of Franck C. Church. [En ligne] Consultée le 07 décembre 2008.
- [24] GUYADER G. Dosage des facteurs de la coagulation et de leurs inhibiteurs chez le chien. Thèse Méd. Vét., Nantes, 2005, n°4, 42 p.
- [25] PONTOIS M. Troubles héréditaires de l'hémostase chez le chien. *Encyclopédie Vétérinaire*, 2002, Biologie clinique 0400.
- [26] BROOKS M., DEWILDE L. Feline factor XII deficiency. *Comp. Cont. Educ. Vet. Pract.*, 2006, 28(2), 148-155.
- [27] PRIEUR D.J., COLLIER L.L. Chédiak-Higashi syndrome. *Am. J. Pathol.*, 2008, 90(2), 533-536.
- [28] SCHALM O.W., JAIN N.C., CARROLL E.J. Blood coagulation and fibrinolysis. In: *Veterinary hematology*. 3rded. Philadelphia: Léa and Fabiger, 2005, 284-300.
- [29] STOKOL T., PARRY B.W., MANSELL P.D., RICHARDSON J.L. Hemorrhachis associated with hemophilia an in three German shepherd dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 2004, 30, 239-243.
- [30] MANSELL P.D., PARRY B.W. Carrier detection in human and canine haemophilia A. *Vet. Bull.*, 1992, 62 (10), 999-1007.
- [31] COTTER S.M., BRENNER R.M., DODDS W.J. Hemophilia A in three unrelated cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2008, 172 (2), 166-169.

Les références de la recherche bibliographique

- [32] Arock M. et Pieroni L. : L'hémostase, *Biologiste et Praticien*, 2007,109(1) ,1-74.
- [33] Zur M. and Nemerson Y.: Kinetics of factor IX activation via the extrinsic pathway, *J. Biol. Chem.*, 2000, 255(12), 5703-5707.
- [34] Samama M., *Physiologie et exploration de l'hémostase*, Dain, Paris, 2008.
- [35] Hayer L.W., Wyshock E.G. and Colman R.W.: Coagulation cofactors: factors V and VIII, in Colman R.W., Hirsh I., Marder V.I. and Salzman E.W. (Eds): *Hemostasis and thrombosis*, 3 rd ed., 2006, Lippincott Compagny, Philadelphia, 109-133.
- [36] De La Cadena R.A., Wachtfogel Y.T. and Colman R.W.: Contact activation pathway: inflammation and coagulation, in Colman R.W., Hirsh I., Marder V.I. and Salzman E.W. (Eds): *Hemostasis and thrombosis*, 3 rd ed., 1994, Lippincott Compagny, Philadelphia, 219-240.
- [37] Griffin J.H.: Role of surface in surface-dependent activation of Hageman factor (blood coagulation factor XII), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, 75(4), 1998-2002.
- [38] Griffin J.H. and Cochrane C.G.: Recent advances in the understanding of contact activation reactions, *Semin. Thromb. Hemost.*, 2009, 5(4), 254-273.
- [39] Bouma B.N., Miles L.A., Beretta G. and Griffin J.H.: Human plasma prekallikrein. Studies of its activation by activated factor XII and of its inactivation by diisopropyl phosphofluoridate, *Biochemistry*, 2008, 19(6), 1151-1160.
- [40] Heimark R.L., Kurachi K., Fujikawa K. and Davie E.W.: Surface activation of blood coagulation, fibrinolysis and kinin formation. *Nature*, 2008, 286(5772), 456-460.
- [41] Sugo T., Ohno Y., Shimada T., Kata H. and Iwanaga S. : Mechanism of surface-mediated activation of bovine Factor XII and prekallikrein, *Adv. Exp. Med. Biof.*, 2003, 156, 87-107.
- [42] Shimada T., Sugo T., Kata H., Yoshida K. and Iwanaga S.: Activation of factor XII and prekallikrein with polysaccharide sulfates and sulfatides: comparison with kaolin-mediated activation, *J. Biochem. (Tokyo)*, 2005, 97(2), 429-439.
- [43] Silverberg M., Dunn J.T., Garen L. and Kaplan A.P.: Auto activation of human Hageman factor. Demonstration utilizing A synthetic substrate, *J. Biol. Chem.*, 2008, 255(15), 7281-7286.
- [44] Tans G. and Rosing J.: Structural and functional characterization of factor XII, *Semin. Thromb. Hemost.* 2007, 13(1), 1-14.
- [45] Rejkaer R., Hasan A.A., Motta G., Schousboe I. and Schmaier A.H.: Factor XII does not initiate prekallikrein activation on endothelial cells, *Thromb. Haemost.*, 2008, SO (1), 74-81.

Les références de la recherche bibliographique

- [46] Wiggins R.C., Bouma B.N., Cochrane C.G. and Griffin J.H.: Role of high-molecular-weight kininogen in surface-binding and activation of coagulation Factor XI and prekallikrein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, 74(10), 4636-4640.
- [47] Fujikawa K., Heimark R.L., Kurachi K. and Davie E.W.: Activation of bovine factor XII (Hageman factor) by plasma kallikrein, *Biochemistry*, 2008, 19(7), 1322-1330.
- [48] Sugo T., Kato H., Iwanaga S., Takada K. and Sakakibara S.: Kinetic studies on surface-mediated activation of bovine factor XII and prekallikrein. Effects of kaolin and high-Mr Kininogen on the activation reactions, *Eur. J. Biochem.*, 2005, 146(1), 43-50.
- [49] Kaplan A.P. and Silverberg M.: The coagulation-kinin pathway of human plasma, *Blood*, 2007, 70(1), 1-15.
- [50] Kurachi K., Fujikawa K. and Davie E.W.: Mechanism of activation of bovine factor XI by factor XII and factor XIIa, *Biochemistry*, 2008, 19(7), 1330-1338.
- [51] Bouma B.N. and Griffin J.H.: Initiation mechanisms: the contact activation system in plasma, in Zwaal R.F.A. and Hemker H.C. (Eds): *Blood Coagulation*, 2006, Elsevier, New-York, 103-128.
- [52] Colman R.W. and Schmaier A.H.: Contact system: a vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic, antiadhesive, and proinflammatory attributes, *Blood*, 2007, 90(10), 3819-3843.
- [53] Wachtfogel Y.T., De La Cadena R.A. and Colman R.W.: Structural biology, cellular interactions and pathophysiology of the contact system, *Thromb. Res.*, 2003, 72(1), 1-21.
- [54] Mitropoulos K.A., Reeves B.E., O'Brien D.P., Cooper J.A. and Martin J.C.: The relationship between factor VII coagulant activity and factor XII activation induced in plasma by endogenous or exogenously added contact surface, *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 2003, 4(2), 223-234.
- [55] Mitropoulos K.A., Martin J.C., Stirling Y., Morrissey J.H. and Cooper J.A.: Activation of factors XII and VII induced in citrated plasma in the presence of contact surface, *Thromb. Res.*, 1995, 78(1), 67-75.
- [56] Kluft C., Dooijewaard G. and Emeis J.I.: Role of the contact system in fibrinolysis, *Semin. Thromb. Hemost.*, 1987, 13(1), 5068.
- [57] Jansen P.M., Pixley R.A., Brouwer M., de Jong I.W., Chang A.C., Hack C.E., Taylor F.B. Jr. and Colman R.W.: Inhibition of factor XII in septic baboons attenuates the activation of complement and fibrinolytic systems and reduces the release of interleukin 6 and neutrophil elastase, *Blood*, 1996, 87(6), 2337-2344.
- [58] Miles L.A., Greengard J.S. and Griffin J.H.: A comparison of the abilities of plasma kallikrein, beta-Factor XIIa, Factor XIa and urokinase to activate plasminogen, *Thromb. Res.*, 2003, 29(4), 407-417.

Les références de la recherche bibliographique

[59] Hauert I, Nicoloso G. and Schleuning W.D.: Plasminogen activators in dextran sulfate-activated euglobulin fractions: a molecular analysis of factor XII- and prekallikrein-dependent fibrinolysis, *Blood*, 2000, 73(4), 994-999

[60] Loza J.P., Gurewich V., Johnstone M. and Pannell R.: Platelet-bound prekallikrein promotes pro-urokinase-induced clot lysis: a mechanism for targeting the factor XII dependent intrinsic pathway of fibrinolysis, *Thromb. Haemost*, 2004, 71(3), 347-352.

[61] Gurewich V., Johnstone M., Loza I.P. and Pannell R.: Pro-urokinase and prekallikrein are both associated with platelets. Implications for the intrinsic pathway of fibrinolysis and for therapeutic thrombolysis, *FEBS u*, 1993, 318(3), 317-321.

[62] Lenich C., Pannell R. and Gurewich V.: Assembly and activation of the intrinsic fibrinolytic pathway on the surface of human Endothelial cells in culture *Thromb. Haemost*. 1995, 74(2), 698-703.

ملخص :

الهيموستاز هو مجموعة من الآليات البيولوجية التي تعمل على توقيف النزيف والحفاظ على الدم في حالة سائلة. هناك ثلاث مراحل كلاسيكية معقدة تعتمد على بعضها البعض، التخثر الأولي، التخثر الثانوي وانحلال الفيبرين.

التخثر الأولي هو كل الظواهر التي من شأنها أن تؤدي إلى تشكيل مكونات الصفائح الدموية، ويتمثل دور هذه الأخيرة في توقيف النزيف ولكن لا تستطيع القيام بعملية الترميم. أما التخثر الثانوي فهي عملية تعتمد على مجموعة من العوامل التي من شأنها العمل على تجلط الدم. أما في المرحلة الأخيرة هو انحلال الفيبرين وذلك بتحويل الفيبرينوجين الصلب إلى الفيبرين الخيطي التي تطوق في شبكة تعميم.

و هنالك كثير من الأمراض التي تصيب الإنسان بالنسبة إلى التخثر الأولي مثل مرض فون ويل برند وهو المرض الأكثر شيوعا أما بالنسبة لتخثر الثانوي مثل الهيموفيليا أ ب وهو عامل نقص التخثر.

وللكشف على هذه الأمراض تستخدم مجموعة من الاختبارات البيولوجية.

و للوقاية من هذه الظاهرة هناك مجموعة من الأدوية ذات منشأ كيميائي من شأنها أن توقف هذه الظاهرة مثل مضاد الثر ومبين. مضاد العامل العاشر النشط. و ذات منشأ طبيعي مثل النباتات الطبية .

الكلمات المفتاحية الهيموستاز ، التخثر الأولي ، التخثر الثانوي ، انحلال الفيبرين ، الهيموفيليا.

Résumé

L'hémostase c'est un ensemble de mécanismes biologiques coordonnés permettant de stopper une hémorragie et de maintenir le sang à l'état liquide. On distingue classiquement trois étapes intriquées et dépendantes l'une de l'autre : l'hémostase primaire, l'hémostase secondaire, et la fibrinolyse. L'hémostase primaire c'est tout les mécanismes qui aboutissent à la formation du clou plaquettaire, et qui stoppe l'hémorragie mais ne répare pas la lésion du vaisseau. Tandis que la coagulation est un processus qui suit la lésion vasculaire et qui permet le passage du sang de l'état fluide à l'état solide. Il comporte une cascade de réactions enzymatiques impliquant les facteurs de la coagulation dont plusieurs sont des protéases comportant une sérine au niveau du site actif et soumises à des activations et à des inhibitions. L'étape finale est la transformation du fibrinogène soluble en filaments de fibrine qui encerclent dans leurs mailles les cellules circulantes. Ils existent des nombreuses pathologies de l'hémostase soit d'hémostase primaire comme par exemple : la maladie de VonWillbrand qui est la maladie le plus fréquente chez l'être humain, soit secondaire comme l'homophilie « A, B », déficit en facteur de la coagulation. Pour l'exploration de ces différentes comme, on utilise des nombreuses testes biologiques.

Pour la prévention de d'extension de la coagulation, la médecine mise en œuvre des substances qui stopper cette cas se sont les « anticoagulants » d'origine synthétisé « antithrombine, antivitamin K, anti-facteur Xa » ou d'origine naturelle comme « les plantes médicinales ».

Les mots clés : hémostase, coagulation, fibrinolyse, les facteurs de la coagulation, cascade de réactions enzymatiques.

Summary:

Hemostasis is a coordinated set of biological mechanisms to stop bleeding and to keep the blood in the liquid state. There are three intricate classical stages and dependent on one another, primary hemostasis, secondary hemostasis and fibrinolysis.

Primary hemostasis includes all phenomena that lead to the formation of the platelet plug, the platelet plug stops bleeding but does not fix the vessel injury. Secondly "coagulation" is the process following vascular injury and allows the passage of blood from the fluid state to a solid state. It includes a cascade of enzymatic reactions involving coagulation factors many of which are serine proteases with an active site and subject to activations and inhibitions. The final step is the conversion of soluble fibrinogen to fibrin filaments which encircle in their mesh circulating cells. They exist for many diseases of hemostasis either primary hemostasis such as: disease VonWillbrand which is the most common disease in humans or secondary hemophilia as "A, B" factor deficiency of coagulation. For exploration of these as are used many biological tests.

For the prevention of expansion of coagulation medicine implementation substances that will stop this cascade are the "blood thinners" originally synthesized "antithrombin anticoagulant, anti-factor Xa" or of natural origin " medicinal plants ".

Keywords: Homeostasis, coagulation, fibrinolysis, cascade of enzymatic reactions, coagulation factor.

Ali senoussi Mehamed

Mémoire en vue l'obtention du diplôme de : MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Thème : L'étude de s facteurs de la coagulation sanguine.

Résumé :

L'hémostase c'est un ensemble de mécanismes biologiques coordonnés permettant de stopper une hémorragie et de maintenir le sang à l'état liquide. On distingue classiquement trois étape intriquées et dépendantes l'une de l'autre : l'hémostase primaire, l'hémostase secondaire, et la fibrinolyse. L'hémostase primaire c'est tout les mécanismes qui aboutissent à la formation du clou plaquettaire, et qui stoppe l'hémorragie mais ne répare pas la lésion du vaisseau. Tandis que la coagulation est un processus qui suit la lésion vasculaire et qui permet le passage du sang de l'état fluide à l'état solide.

Il comporte une cascade de réactions enzymatiques impliquant les facteurs de la coagulation dont plusieurs sont des protéases comportant une sérine au niveau du site actif et soumises à des activations et à des inhibitions.

L'étape finale est la transformation du fibrinogène soluble en filaments de fibrine qui encerclent dans leurs mailles les cellules circulantes. Ils existent des nombreuses pathologies de l'hémostase soit d'hémostase primaire comme par exemple : la maladie de VonWillbrand qui est la maladie le plus fréquente chez l'être humain, soit secondaire comme l'homophilie « A, B », déficit en facteur de la coagulation. Pour l'exploration de ces différentes comme, on utilise des nombreuses testes biologiques.

Pour la prévention de d'extension de la coagulation, la médecine mise en œuvre des substances qui stopper cette cas se sont les « anticoagulants » d'origine synthétisé « antithrombine, antivitamine K, anti-facteur Xa » ou d'origine naturelle comme « les plantes médicinales »

Mots clés : hémostase, coagulation, fibrinolyse, les facteurs de la coagulation, cascade de réactions enzymatiques.

Jury d'évaluation :

| | | |
|----------------------------|--------------------|-------------------------|
| Président du jury : | NECIB Yousef. | (Pr - UFM Constantine). |
| Rapporteur : | NOUADRI Tahar. | (MCA- UFM Constantine). |
| Examineurs : | KHEDARA Abdelkrim. | (MCA- UFM Constantine). |

Année universitaire : 2014/2015