

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA



FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

TROUBLES DE L'HEMOSTASE ET EXPLORATION BIOLOGIQUE

Mémoire de fin d'études présenté en vue de l'obtention du diplôme de
Docteur en Pharmacie.

Session Juin 2014

Présenté et soutenu par :

- CHAIB Amel
- HACENE Youcef Chakib

Membres du jury :

- Présidente du Jury : **Pr. TALBI**
- Membre du Jury : **Pr. OULDEROUIS**
- Membre du Jury : **Dr. HADDAD**
- Rapporteur : **Dr. BOUDJELLAB**

Remerciements

On tient à exprimer notre profond respect ainsi que notre gratitude à Dr. Boudjellab de nous avoir orienté tout au long de ce travail de recherche et d'avoir su nous recadrer sur nos principaux objectifs. Sa disponibilité, son écoute et son aide nous ont été très précieuses.

Aussi, on remercie le jury de l'intérêt et du temps qui nous ont été accordés.

On témoigne notre vive reconnaissance à tous les professeurs qui ont contribué à notre apprentissage durant les six années de formation que comprend le cursus d'études en Pharmacie.

Enfin, on dédie ce modeste projet de fin d'études à nos familles ainsi qu'à tous nos proches.

Table des matières

Remerciements	1
Table des matières	2
Liste des figures	5
Liste des tableaux	6
Liste des abréviations	7
Introduction générale.....	11
CHAPITRE 01 : RAPPELS SUR L'HEMOSTASE.....	14
1. L'hémostase primaire	14
1.1. Les intervenants dans l'hémostase primaire	14
1.1.1 La paroi vasculaire	14
1.1.2 Les plaquettes	19
1.1.3 Le facteur de Willebrand (FvW)	21
1.1.4 Le fibrinogène (FI)	24
1.2 Le déroulement de l'hémostase primaire.....	24
1.2.1 L'adhésion plaquettaire	24
1.2.2 L'activation plaquettaire	28
1.2.3 La sécrétion plaquettaire	29
1.2.4 L'agrégation plaquettaire	30
2. L'hémostase secondaire	31
2.1 Les intervenant dans l'hémostase secondaire.....	31
2.1.1 Les facteurs de la coagulation	31
2.1.2 Les phospholipides et le calcium	34
2.2 Mécanisme de la coagulation	35
2.2.1 La voie extrinsèque	35
2.2.2 La voie intrinsèque (voie de contact)	37
2.3 Régulation de la coagulation	39
2.3.1 La régulation négative	39
2.3.2 La régulation positive.....	44

3.	La fibrinolyse	45
3.1	Facteurs du système fibrinolytique.....	45
3.1.1	Le plasminogène	45
3.1.2	La plasmine	45
3.2	Régulation de la fibrinolyse.....	46
3.2.1	Les activateurs physiologiques de la fibrinolyse.....	46
3.2.2	Les inhibiteurs physiologiques de la fibrinolyse.....	48
3.3	Mécanisme de la fibrinolyse.....	51
4.	Les tests d'exploration de l'hémostase.....	54
4.1	Phase pré-analytique.....	54
4.1.1	L'anamnèse et la fiche de renseignement	54
4.1.2	Le prélèvement sanguin destiné au bilan de l'hémostase.....	54
4.2	Phase analytique	56
4.2.1	Tests d'exploration de l'hémostase primaire.....	56
4.2.2	Tests d'exploration de l'hémostase secondaire.....	60
4.2.3	Tests d'exploration de la fibrinolyse	66
	CHAPITRE II : TROUBLES DE L'HEMOSTASE.....	69
I-	Les états hémorragiques	69
1.	Les anomalies de l'hémostase primaire	69
1.1	Les anomalies de l'hémostase primaire d'origine vasculaire.....	69
1.1.1	Les affections primitives	70
1.1.2	Les affections secondaires.....	71
1.2	Les anomalies plaquettaires.....	73
1.2.1	Les thrombopénies	73
1.2.2	les thrombopathies.....	77
1.3	Anomalie de l'hémostase primaire par atteinte plasmatique.....	85
1.3.1	Déficit en FvW	85
1.3.2	Déficit quantitatif en fibrinogène : Afibrinogénémie et hypofibrinogénémie ...	91
2.	Les anomalies de l'hémostase secondaire.....	92
2.1	Les déficits en facteurs de la coagulation.....	92
2.1.1	Les déficits héréditaires en facteurs de la coagulation	92

2.1.2	Les déficits acquis en facteurs de la coagulation	101
3.	Les anomalies de la fibrinolyse	104
II-	Les états thrombotiques.....	105
➤	Thrombopénie induite par l'héparine (TIH).....	105
➤	Les hyperplaquettoses	106
➤	PTT, SHU et le syndrome de HELP	107
➤	Déficit en AT.....	109
➤	Déficit en PC	110
➤	Déficit en PS.....	112
➤	Résistance à la PCa et FVL	113
➤	Mutation du gène de la prothrombine	113
➤	Syndrome anti-phospholipides.....	114
➤	Déficit qualitatif en fibrinogène : Dysfibrinogénémie	115
➤	Hyperhomocystéinémie.....	115
➤	La grossesse.....	116
➤	Les contraceptifs oraux	116
➤	Syndrome néphrotique	117
➤	Etats post-opératoires	117
➤	Traumatismes	117
➤	Hémoglobinurie paroxystique nocturne	118
	Coagulopathie de consommation : Coagulation intra-vasculaire disséminée (CIVD)	120
	Conclusion.....	132
	Liste des annexes.....	133
	Références bibliographiques	144

Liste des figures

Figure 1 : Représentation graphique illustrant l'histologie de l'endothélium.....	15
Figure 2 : Schéma illustrant les principales fonctions de l'endothélium dans la coagulation .	19
Figure 3 : Représentation schématique d'une plaquette sanguine.	20
Figure 4 : Schéma illustrant la relation structure-activité du FvW	22
Figure 5 : Structure et action de l'ADAMTS13 dans le clivage des multimères de haut poids moléculaire du FvW.....	23
Figure 6 : Schéma illustrant les différents complexes moléculaires grâce auxquels l'activation plaquettaire se fait par le collagène.....	28
Figure 7 : Gammacarboxylation de l'extrémité N terminale d'une protéine de coagulation vitamine K dépendante	33
Figure 8 : Formation, polymérisation et stabilisation de la fibrine.	37
Figure 9 : Schéma illustrant la coagulation sanguine.....	38
Figure 10 : Action catalytique de l'héparine sur l'inactivation du facteur Xa par l'antithrombine.	40
Figure 11 : La régulation négative du système de la protéine C	43
Figure 12 : Action de la protéine Z et du ZPI dans l'inhibition du FXa.	44
Figure 13 : Transformation du plasminogène en plasmine	46
Figure 14 : Formation des D-dimères.	52
Figure 15 : schéma illustrant le mécanisme de la fibrinolyse	53
Figure 16 : Observation sur frottis sanguin d'artéfacts faussant la numération plaquettaire automatisée.....	56
Figure 17 : Shéma représentant la courbe de Thivolle.....	61
Figure 19 : Localisation des mutations du type 2 de la maladie de willebrand dans le gène codant pour le FvW.....	87
Figure 20 : Mode de transmission de l'hémophilie.....	92
Figure 21 : Physiopathologie du PTT	108

Liste des tableaux

Tableau 1 : Noms des récepteurs plaquettaires des protéines adhésives..... 26

Tableau 2 : Les facteurs de coagulation 32

Tableau 3 : Inhibiteurs physiologiques de la coagulation 51

Tableau 4 : Classification ISTH de la maladie de willebrand selon le type d’anomalie du FvW.
..... 86

Tableau 5 : Tests spécifiques dans le cadre du diagnostic de certitude de la maladie de Von
willebrand..... 89

Tableau 6 : Déficits constitutionnels en facteurs de la coagulation 100

Liste des principales abréviations

LMAN : Lectine Mannose Bending Protein	PTI : purpura thrombopénique idiopathique
MCFD2 : Multiple coagulation Factor Deficiency 2	PTT : purpura thrombotique
P : bras court du chromosome	thrombocytopénique
Q : bras long du chromosome	MAT : microangiopathies thrombotiques
TXA2 : Thromboxane A2	BS : bernard Soulier
MTHFR : méthylènetétrahydrofolate réductase	PR : Purpura rhumatoïde
HBS : heparin binding site	SPG : syndrome des plaquettes grises
NN : nouveau né	dDAVP : Desmopressine
PLA2: phospholipase A2	TIH : Thrombopénie induite par l'héparine
TXA2: thromboxane A2	SHU : Syndrome hémolytique urécémique
COX1: cyclooxygénase 1	GP : Glycoprotéine
TFPI: Tissue factor pathway inhibitor	FvW : Facteur de Von Willebrand
AT: antithrombine	PC : Protéine C
HCII: second facteur de l'héparine	PS : Protéine S
TM: thrombomoduline	
a: forme active	
EGF: epithelial growth factor	
scu-PA: single chain urinary-type plasminogen activator=prourokinase	
t-PA : l'activateur tissulaire du plasminogène	
tcu-PA :two chain urinary-type plasminogen activator)=urokinase	
NP: numération plaquettaire	
TS: temps de saignement	
TOP: temps d'occlusion plaquettaire	
TCA : temps de céphaline activée	
TQ : temps de quick	
TP : taux de prothrombine	
TR : temps de reptilase	
TT : temps de thrombine	

Résumé

L'hémostase est un processus physiologique complexe qui comprend une cascade d'étapes intriquées. Une anomalie au niveau de l'une de ces étapes aura pour conséquence un déplacement de l'équilibre hémostatique entraînant un état d'hypocoagulabilité ou d'hypercoagulabilité. Les troubles de l'hémostase sont d'origine constitutionnelle ou acquise et se manifestent cliniquement le plus souvent par des hémorragies ou des thromboses. La bonne conduite à tenir lors de l'exploration des troubles de l'hémostase est capitale. Les tests biologiques de routine (screening tests), bien que précieux dans l'orientation du diagnostic, ont certaines limites. En effet, l'orientation diagnostique des troubles de l'hémostase doit également tenir compte à la fois de l'anamnèse propre à chaque patient et du tableau clinique que présente celui-ci. Cependant, notre étude s'accentue d'avantage sur l'exploration biologique des troubles de l'hémostase que sur leur aspect clinique, bien que le tableau clinique général propre à chaque trouble soit également décrit. En somme, il est nécessaire de donner plus de place dans le diagnostic des troubles de l'hémostase aux nouvelles méthodes spécialisées spécifiques, sûres et parfois plus précoces comme la PCR.

Mots clés : hémostase, troubles de l'hémostase, hémorragies, thromboses, exploration biologique.

Abstract

Hemostasis is a physiological process comprised of a sequel of metabolic reactions that result in preventing the blood constituents from flowing out of the vessel. Disorders in these processes will potentially result in hemorrhagic syndromes and/or thrombotic episodes and complications depending on the nature of the defect. The purpose of our study is to firstly provide a comprehensive description of the different hemostatic processes in order to get a better understanding of coagulation diseases, then to describe the said pathologies as well as their biological diagnosis. The practical approach that leads to the definitive diagnosis has to take into consideration, not only the results of the screening test, namely due to their lack of precision and specificity, but also the patient's personal history and his clinical evaluation, as well as the results of more specialized assays.

Keywords : hemostasis, hemostasis defects, bleeding diathesis, thrombosis, laboratory evaluation

ملخص

الارقاء عبارة عن عملية فيزيولوجية معقدة تتضمن العديد من المراحل المتداخلة والمترابطة فيما بعضها. ان ظهور أي خلل على مستوى هذه المراحل ينتج عنه اختلال في توازن عملية التخثر الدموي مما ينجم عنه نقص في التخثر الدموي أو افراط في التخثر الدموي. ان الاضطرابات خلال الارقاء ذات أصل تكويني أو وراثي وتظهر جليا على المستوى الاكلينيكي على شكل نزيف دموي أو على شكل جلطة دموية. ان المراقبة الجيدة والسير الحسن خلال دراسة واستكشاف الاضطرابات الخاصة بالإرقاء أمر ضروري جدا. رغم أهمية التحاليل البيولوجية الروتينية في تحديد مسرى الفحص الخاص بالإرقاء، الا ان اسهامه محدود المستوى. وبذلك، فان التوجه التشخيصي لحالة اضطرابات الارقاء يتقيد أيضا بالسجل الصحي لكل مريض والتقرير الاكلينيكي الخاص به. ان دراستنا تستند على معارف علوم الفيزيولوجيا فيما يخص الارقاء وذلك لتسهيل عملية التعرف على الأمراض الخاصة به. الدراسة تتعمق خصوصا في الاستكشاف البيولوجي لاضطرابات الارقاء علما أن التقرير الاكلينيكي لكل حالة سيرفق بالتفصيل. يتطلب الفحص المعمق لحالت اضطراب الارقاء الى فسح المجال للتقنيات الحديثة الأكثر تخصصا ودقة.

الكلمات الرئيسية : الارقاء - اضطرابات الإرقاء -نزيف دموي -جلطة دموية -الاستكشاف البيولوجي

Traduit par : Dr. Attallah Bousaid

Introduction générale

L'hémostase est un processus physiologique nécessaire dans la réponse à l'une de ses voies d'activation. Le moindre dysfonctionnement dans ce processus engendre une coagulopathie. Le bilan de l'hémostase comprend une série de tests biologiques qui visent à diagnostiquer un trouble de l'hémostase.

Il est excessif et inadapté d'effectuer systématiquement tous les tests biologiques lors de l'exploration biologique des troubles de l'hémostase chez un patient présentant ou pas une clinique symptomatologique. En effet, l'exploration biologique dans le but diagnostique d'un trouble de l'hémostase doit être une démarche réfléchie et ce afin de gagner du temps et de réduire les coûts. C'est pourquoi nous avons orienté notre recherche bibliographique autour des troubles de l'hémostase et de leur exploration biologique. Pour ce faire, nous avons émis la problématique suivante : « ***Quelle sont les troubles de l'hémostase et quelle est la conduite à tenir lors de leur exploration biologique ?*** ». Pour pouvoir répondre à cette problématique nous avons dû élaborer les sous-questions suivantes :

- Quelle est la physiologie de l'hémostase ?
- Quels sont les tests routiniers et spécialisés relatifs à l'exploration de l'hémostase ?
- Quels sont les troubles de l'hémostase aboutissant à un syndrome hémorragique ?
- Quels sont les troubles de l'hémostase aboutissant à un syndrome thrombotique ?
- Quelle est la conduite à tenir lors de l'exploration biologique des troubles de l'hémostase ?
- Quelles sont les méthodes spécialisées utilisées dans le diagnostic de certitude des troubles de l'hémostase ?

Afin de mieux appréhender les anomalies de l'hémostase, il faut impérativement connaître le déroulement physiologique de celui-ci. Pour ce faire, le premier chapitre de notre mémoire intitulé « *Rappels sur l'hémostase* » aborde les mécanismes, les intervenants, la régulation et les tests biologiques relatifs à l'hémostase.

Le second chapitre dénommé « *Troubles de l'hémostase* » traite les troubles de l'hémostase à diathèse hémorragique ou thrombotique en dressant leur physiopathologie, leur clinique, leur diagnostic biologique et leur traitement.

Le troisième chapitre sous le nom de « *Conduite à tenir lors de l'exploration biologique des troubles de l'hémostase* » concerne la partie pratique de notre travail. On y projette la réflexion générale à avoir devant les troubles de l'hémostase lors de l'exploration biologique. Nous nous sommes basées pour ce faire sur les données récoltées dans les deux premiers chapitres. Enfin on n'omet pas de mettre en lumière les nouvelles méthodes spécialisées spécifiques, sûres et parfois plus précoces comme la PCR.

CHAPITRE 01

RAPPELS SUR L'HEMOSTASE

CHAPITRE 01 : RAPPELS SUR L'HEMOSTASE

« Toute rupture de l'intégrité du circuit vasculaire à l'origine d'une fuite sanguine, déclenche une série de processus cellulaires et biochimiques assurant l'obturation de la brèche vasculaire et le contrôle de l'hémorragie. L'hémostase répond à l'ensemble de ces mécanismes physiologiques et comprend plusieurs étapes intriquées et interdépendantes. » (De revel & Doghmi, 2004). L'hémostase primaire est la première étape d'urgence. Elle conduit à la formation au bout de 3 à 5 minutes d'un thrombus plaquettaire qui sera consolidé par la constitution d'un réseau de fibrine lors de l'hémostase secondaire dont la durée est de 5 à 10 minutes. La fibrinolyse constitue la dernière étape visant à dégrader le réseau de fibrine à l'issue de la réparation vasculaire. Sa durée est de 48 à 72 heures. Ces processus subissent une régulation complexe via un faisceau d'activateurs et d'inhibiteurs.

Dans ce chapitre, nous allons décrire la physiologie de l'hémostase pour appréhender plus facilement les mécanismes probables à l'origine de ses troubles.

1. L'hémostase primaire

Le processus de l'hémostase regroupe l'ensemble des mécanismes physiologiques conduisant à la formation du clou plaquettaire.

1.1. Les intervenants dans l'hémostase primaire

1.1.1 La paroi vasculaire

a. Structure

Le système circulatoire a été traditionnellement divisé en 2 parties : macro-vasculaire (diamètre > 100 μm) et micro-vasculaire.

Histologiquement, le système macro-vasculaire est composé de trois couches allant de la plus profonde à la plus superficielle : L'intima, la media et l'adventice.

-L'intima comprend l'endothélium et le sous endothélium. La media est séparée de l'intima par une couche d'élastine (limitante élastique interne « LEI »).

-La media est composée principalement de couches concentriques de cellules musculaires lisses. Cette couche est responsable de l'intégrité structurelle de la paroi vasculaire et de sa fermeté. Une bande de fibres élastiques (limitante élastique externe « LEE ») sépare l'adventice de la média.

-L'adventice est composée du tissu conjonctif lâche. C'est la partie la plus extérieure. Elle contient aussi des terminaisons nerveuses ainsi que des vaisseaux sanguins de diamètre inférieur, les « vasa vasorum ».

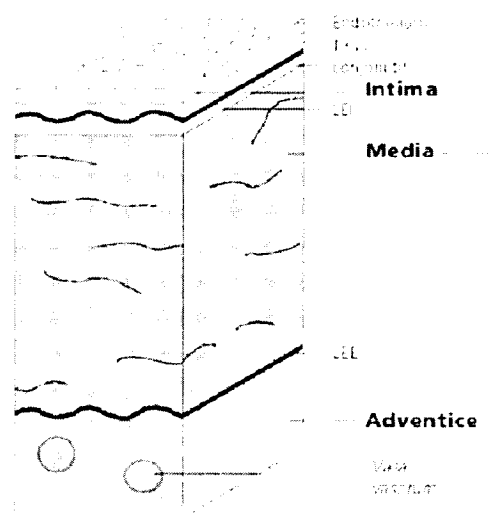


Figure 1 : Représentation graphique illustrant l'histologie de l'endothélium

Source de l'image : (Léoni, 2014)

b. Fonctions de l'endothélium

L'endothélium est un revêtement continu formé d'une monocouche de cellules qui tapissent la surface interne de la lumière vasculaire. Il possède des rôles diverses, notamment dans la régulation de l'hémostase :

- **Fonction de contrôle du tonus vasculaire**

L'endothélium peut synthétiser et sécréter de nombreuses substances vasoactives qui diffusent vers les muscles lisses sous-jacents provoquant soit sa contraction ou son relâchement.

- Le facteur relaxant dérivé de l'endothélium (EDRF), découvert par Furchgott et Zawadzki en 1980 est caractérisé en 1987 comme du monoxyde d'azote (NO) ou un composé contenant du NO (Palmer & al, 1987). C'est un puissant **vasodilatateur** synthétisé par les cellules endothéliales par la NO synthétase (NOS endothéliale). Il agit sur les cellules musculaires lisses et peut aussi être sécrété au niveau de la lumière vasculaire pour agir sur les plaquettes.

- La prostacycline (PGI₂) est une prostaglandine synthétisée principalement par les cellules endothéliales et musculaires lisses, via le métabolisme de l'acide arachidonique par la voie métabolique de la cycloxygénase (COX). Elle agit comme une substance **vasodilatatrice** mais son rôle est mineur en comparaison avec le NO.
- L'endothéline 1 (ET-1) est synthétisée par les cellules endothéliales et exprimée abondamment au niveau des cellules musculaires lisses. C'est un peptide libéré principalement à la face abluminale de la couche endothéliale. Elle est responsable d'une action **vasoconstrictrice**. L'endothéline, synthétisée par l'endothélium humain est le plus puissant vasoconstricteur endogène connu. (Yanagisawa & al, 1988).
- l'anion superoxyde (O₂•⁻) a une action **vasoconstrictrice** (Harrison, 1997). La source de ce radical libre peut être l'endothélium lui-même, ou des cellules inflammatoires ayant migré au site lésé. réagit avec le NO en produisant du peroxynitrite. Des concentrations élevées de superoxyde inhibent la synthèse de la PGI₂ mais pas celle du TXA₂.
- L'enzyme de conversion (ECA) qui se trouve principalement dans les cellules endothéliales favorise la formation d'un puissant **vasoconstricteur** : angiotensine 2 à partir de l'angiotensine 1 et inhibe le système vasodilatateur des kinines.

• Fonction anti-thrombogénique

En temps normal et non perturbé, l'endothélium joue un rôle **anti-thrombotique** par l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, la prévention de l'activation et la propagation de la coagulation et la stimulation de la fibrinolyse : c'est une surface thromborésistante.

La thromborésistance de l'endothélium s'explique par plusieurs raisons :

-La surface endothéliale est recouverte d'une enveloppe cellulaire (glycocalyx) riche en protéoglycanes (héparane sulfate en particulier). Cette enveloppe joue un rôle important dans la thromborésistance de l'endothélium. C'est à dire que les cellules endothéliales ne réagissent pas avec les plaquettes, les leucocytes et le système de la coagulation: la cause réside probablement dans les nombreuses charges électronégatives de l'héparane sulfate. (Legrand,

1987). Les **protéoglycanes à héparane sulfate** sont sécrétés sur la surface luminale ainsi que dans le sous endothélium. Les héparane sulfate sont capables de lier et d'activer l'antithrombine III, et par conséquent accélérer l'inactivation de plusieurs facteurs procoagulants.

-La **thrombomoduline (TM)** est un protéoglycane présent à la surface de toutes les cellules endothéliales et mésothéliales, où elle exerce une puissante activité anti-anticoagulante. La TM est également localisée au niveau d'autres cellules (kératinocytes, ostéoblastes, monocytes/macrophages...) où elle serait impliquée au cours de la différenciation cellulaire ou des processus inflammatoires. Son couplage avec la thrombine inhibe son action procoagulante au profit de son action anticoagulante en augmentant son affinité pour la protéine C¹.

-La **prostacycline (PGI₂)** inhibe l'agrégation plaquettaire. Elle se lie sur son récepteur couplé à la protéine G et active l'AMPC qui joue le rôle de second messager.

-La **protéine S**, qui est synthétisée par les cellules endothéliales, joue le rôle de cofacteur pour la protéine C, tout en ayant un rôle anticoagulant qui lui est propre.

-Le **TFPI** (Inhibiteur de la voie du facteur tissulaire) est produit principalement et exprimé à la surface des cellules endothéliales.

- **Fonction fibrinolytique**

Dans le cas où une coagulation a lieu malgré la fonction anti-thrombotique exercée, l'endothélium synthétise aussi des protéines fibrinolytiques. En effet, l'endothélium est une source majeure de t-PA, approximativement 40% du tPA est lié à son inhibiteur PAI-1 (plasminogen activator inhibitor 1), qui est aussi sécrété par les cellules endothéliales. Des récepteurs du plasminogène et du tPA sont présents à la surface des cellules endothéliales, permettant la production d'une activité fibrinolytique localisée.

¹ La synthèse et l'extériorisation de la TM à la surface endothéliale est modulée par divers substances dont les cytokines. Le TNF, l'IL₁ et l'endotoxine diminuent la transcription de l'ARN_m et par conséquent, la synthèse de la TM et donc le nombre de molécules de TM présentes à la surface endothéliale. Au cours de la réaction inflammatoire, plusieurs mécanismes vont concourir à diminuer l'expression de la TM à la surface de l'endothélium diminuant ainsi ses propriétés dans l'inhibition de la coagulation.

- **Fonction pro-coagulante : rupture de la thromborésistance**

La lésion de l'endothélium peut rapidement amoindrir sa fonction anti-coagulante, au profit de fonction pro-coagulante. Même lorsqu'il n'y a pas de lésion vasculaire : les médiateurs de l'inflammation, les endotoxines bactériennes etc ... peuvent créer une rupture de la thromborésistance de l'endothélium.

- **Fonction d'interaction avec la matrice extracellulaire et les cellules sanguines**

Les cellules endothéliales possèdent à leur surface des protéines leur permettant d'interagir entre elles et avec leur environnement extracellulaire. (Boura, 2003).

Toutes les macromolécules constitutives de la membrane basale et de la matrice extracellulaire sont synthétisées par les cellules endothéliales de façon non spécifique. La matrice extracellulaire vasculaire contient différentes protéines parmi lesquelles on trouve: la laminine, les collagènes de type III et IV, l'élastine, la fibronectine, la vitronectine, protéoglycanes et des glycoaminoglycanes GAG (comme l'héparane sulfate).

Les intégrines constituent les principaux récepteurs impliqués dans l'adhésion à la matrice extracellulaire. (Hynes, 1992).

Les cellules endothéliales interviennent dans la défense immunitaire par leurs fonctions biologiques, en particulier dans la circulation lymphocytaire et le recrutement des leucocytes circulants lors des états inflammatoires. Trois familles de molécules d'adhésion vont principalement intervenir dans les processus d'adhésion et d'extravasation leucocytaire: les sélectines, les immunoglobulines et les cadhérines. Les cellules endothéliales jouent un rôle dans la réponse immuno-inflammatoire à travers l'expression entre autres des molécules d'adhérence leucocytaire, des cytokines pro- et anti-inflammatoires. (Boura, 2003).

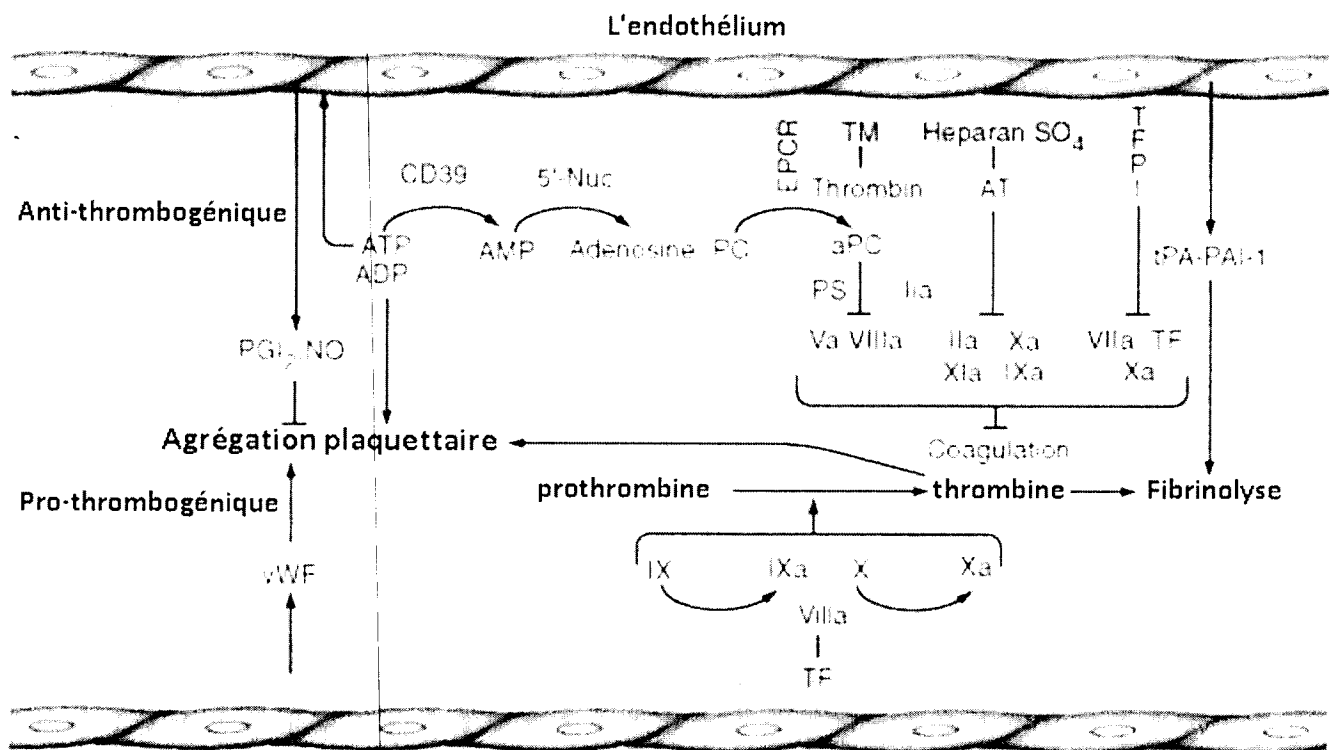


Figure 2 : Schéma illustrant les principales fonctions de l'endothélium dans la coagulation

Source de l'image : (Aly & John M., 2008)

1.1.2 Les plaquettes

Les plaquettes sanguines sont des cellules anucléées de forme discoïde dans leur état normal dont le diamètre est de 2 à 5 µm et dont la durée de vie varie de 7 à 10 jours. Cette forme est maintenue grâce à une bande circonférentielle de microtubules. Cette forme caractéristique facilite leur mouvement dans la circulation sanguine à proximité des parois vasculaires.

L'observation au microscope électronique permet de distinguer 3 zones : La zone périphérique, la zone sol-gel, et la zone des organites.

La **zone périphérique** consiste en une bicouche lipidique, protéines du cytosquelette, protéines transmembranaires, glycoprotéines, ainsi que plusieurs récepteurs transmembranaires d'agonistes solubles tel que l'épinephrine, l'ADP, la thrombine, le thromboxane, le PAF (platelet activating factor), GTP-binding proteins, intégrines (GP Ia/IIa, GP IIb/IIIa, GP Ic/IIa) et non intégrines (GP IV, GP V, GP Ib/IX) ainsi que des canaux ioniques.

Les composantes décrites plus haut permettent la forme discoïde des plaquettes à l'état quiescent, et de par le système contractile qu'elles représentent, permettent les changements morphologiques, formation de pseudopodes, la contraction et la sécrétion. La majeure partie du système contractile se fait via l'actine. D'autres protéines du système contractile plaquettaire sont la myosine, la tropomyosine, l'actin binding protein, cc-actinine, gelsoline, profiline, vinculine, et la spectrine.

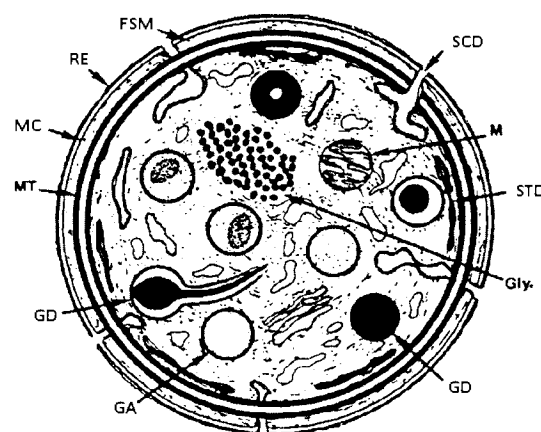


Figure 3 : Représentation schématique d'une plaquette sanguine.

RE : revêtement extérieur ; MC : membrane cellulaire ; SCO : système canaliculaire ouvert ; FSM : filament sous membranaire ; La zone sol-gel contient des microfilaments, microtubules (MT), le glycogène (Gly.) ; granules alpha ; GD : granules denses ; M : mitochondrie ; le STD et le SCO font partie du système membranaire. Les corps denses séquestrent le calcium, les nucléotides adéniques, et la sérotonine.

Source de l'image : (Gundu H. R., 1999)

La **zone à organites** consiste en des granules, des corps denses, peroxyosomes, lysosomes, mitochondries et du glycogène. Cette zone sert de site de stockage pour différentes enzymes, nucléotides adéniques, sérotonine, une variété de protéines, calcium et des antioxydants tel que l'acide ascorbique, la taurine, et le glutathion.

Les granules alpha contiennent la P-sélectine, le facteur plaquettaire 4, le TGF- β 1 (Transforming growth factor), le PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes), la fibronectine, la B-thrombomoduline, le vWF, le fibrinogène, ainsi que les facteurs V et XIII de la coagulation.

Le complexe membranaire unique (STD et SCO) joue un rôle critique dans la physiopathologie plaquettaire. Le STD est le site où les enzymes du métabolisme de l'acide arachidonique et la synthèse de la prostaglandine ont lieu.

La **zone sol-gel** est faite de composants du cytoplasme et contient des fibres, filaments et protéines à divers stades de polymérisation. Le système canaliculaire ouvert (SCO) permet les échanges entre le cytoplasme plaquettaire et le milieu extra cellulaire.

Les agonistes physiologiques ne peuvent pas pénétrer le plasma via la barrière membranaire, et doivent se coupler à des domaines extracellulaires spécifique dans le but de déclencher une séquence de réactions intracellulaires. Parmi les agonistes plaquettaires connus : l'ADP, l'épinéphrine, le thromboxane A₂, la thrombine et le PAF. De plus, les composants de la matrice cellules sous endothéliales, tel que la laminine, la fibronectine, le collagène et le vWF peuvent aussi déclencher l'activation plaquettaire.

L'adhérence des plaquettes et l'activation qui s'en suit résulte en davantage d'adhésion, formation de pseudopodes, suivi par une agrégation et une sécrétion des contenus des granules.

1.1.3 Le facteur de Willebrand (FvW)

Le facteur de Willebrand mature est une protéine multimérique composée d'un nombre variable de sous unités identiques, chacune composée de 2050 acides aminés et de jusqu'à 22 chaînes latérales glucidiques.

Les principales fonctions du FvW sont la liaison et le transport du facteur VIII de la coagulation, l'adhésion des plaquettes aux protéines de la matrice sous endothéliale, ainsi que l'adhésion inter plaquettaire lors de la formation du clou plaquettaire.

Des domaines distincts et séparés au sein du facteur de Willebrand aux fonctions distinctes ont été définis.

Les domaines fonctionnels majeurs du facteur de Willebrand sont :

- Le domaine A1, qui est le site de liaison pour le récepteur plaquettaire GP Iba.
- Le domaine A3, grâce auquel le vWF se lie au collagène.
- Le domaine C1, qui est le site de reconnaissance par les β 3 intégrines.
- Le domaine D'-D3, qui représente le site auquel se lie le facteur VIII.

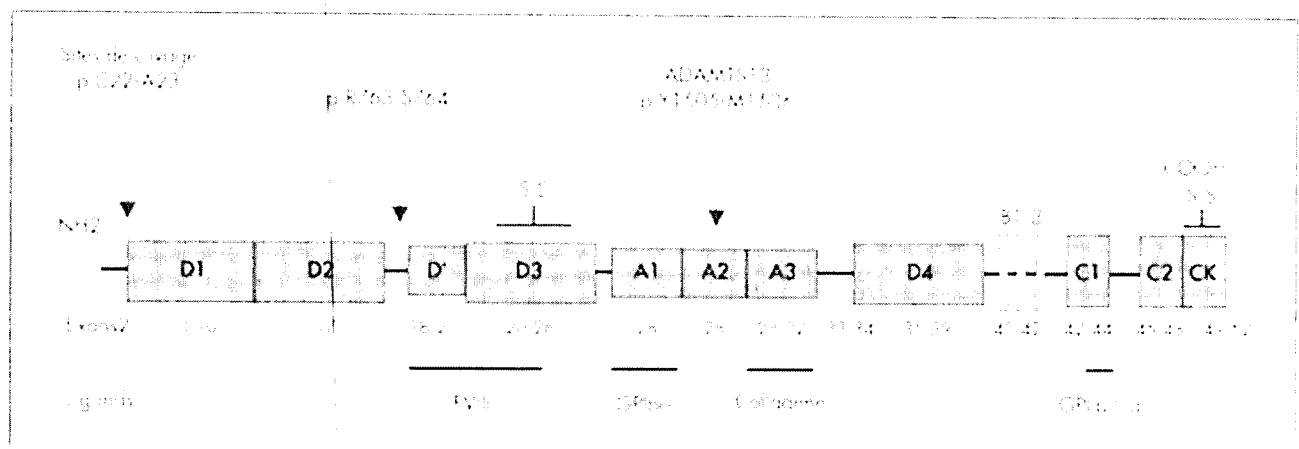


Figure 4 : Schéma illustrant la relation structure-activité du FvW

Source de l'image : (Veyradier, Fressinaud, Goudemand, & Meyer, 2011)

Le FvW est synthétisé exclusivement par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. Suite à sa synthèse par les cellules endothéliales, le FvW est sécrété via deux mécanismes : un mécanisme constitutif où les molécules sont sécrétées dès que leur synthèse est terminée, et un mécanisme induit où les molécules préalablement stockées sont sécrétées sous l'effet de substances stimulatrices. Les plaquettes circulantes ne sécrètent le FvW que via le mécanisme induit.

Le FvW est stocké au niveau des cellules endothéliales et dans les mégacaryocytes dans les corps de Weibel-Palade et dans les granules alpha respectivement.

Etant donné que les plaquettes ne sécrètent le FvW qu'en étant activé, la quasi-totalité du FvW circulant provient des cellules endothéliales. La réduction physiologique de la taille des multimères a lieu via une métalloprotéinase, l'ADAMTS13 au niveau du pont peptidique Tyr1605-Met1606. Ce clivage affecte la taille des multimères circulants et par conséquent leur propriété pro-adhésive dont elles sont fonction. De ce fait la sécrétion In situ du FvW (de large taille) par les cellules endothéliales ainsi que par les plaquettes au moment de la lésion permet d'assurer une fonction adhésive et pro-agrégante optimale.

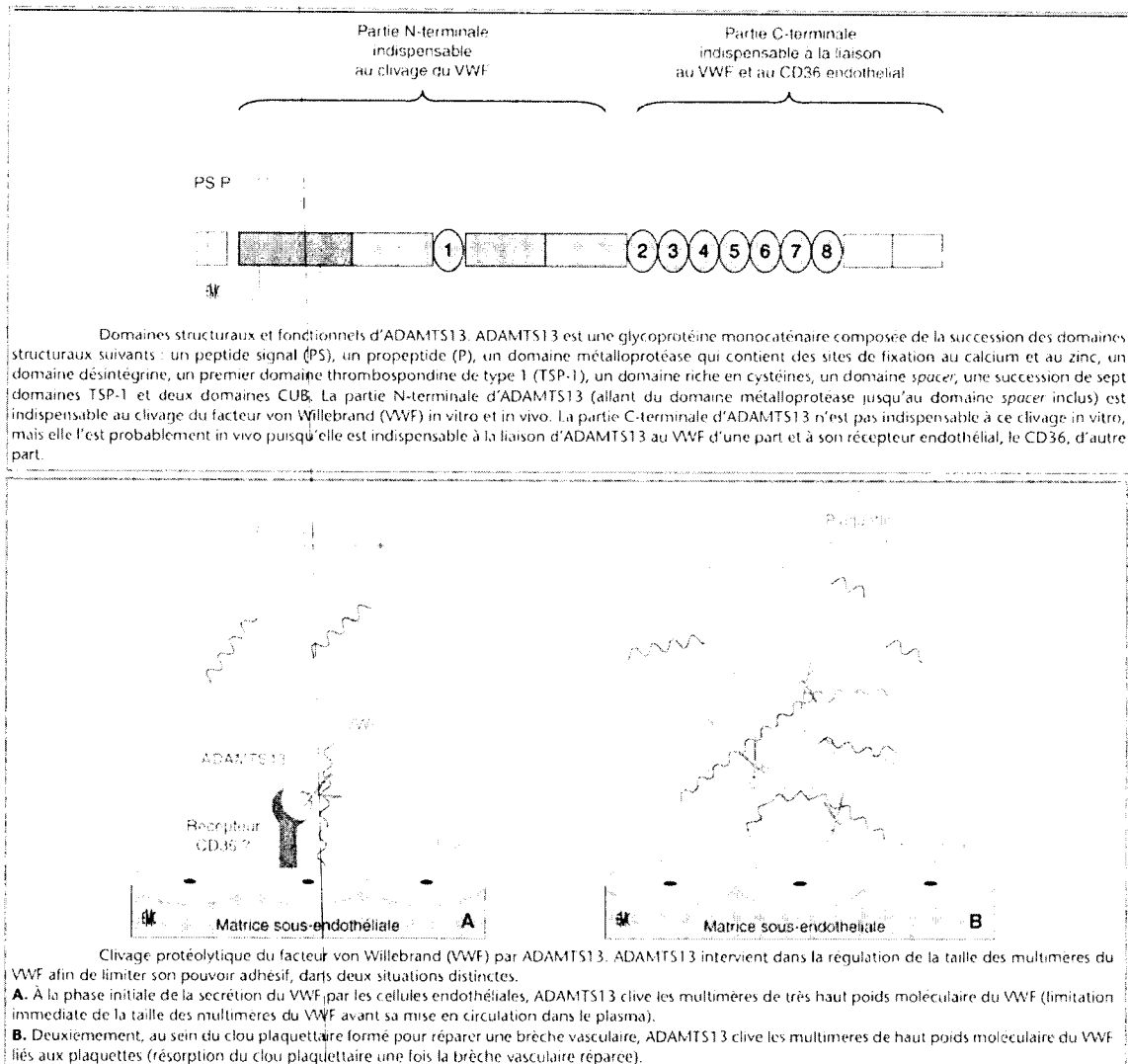


Figure 5 : Structure et action de l'ADAMTS13 dans le clivage des multimères de haut poids moléculaire du FvW.

Source des images : (Veyradier, Wolf, & al, 2011)

In vivo et au-delà d'un certain seuil de vitesse d'écoulement du sang, le FvW est nécessaire à l'adhésion plaquettaire, qui ne peut se faire que par le récepteur GP Iba avec le domaine A1 du FvW préalablement fixé au collagène. Suite à leur activation, les plaquettes vont exposer l'intégrine $\alpha IIb\beta 3$ activée à leur surface, ce qui va permettre la fixation de molécules de facteur Willebrand à la surface des plaquettes, et débiter l'expansion du clou plaquettaire. Suite à cela de nouvelles plaquettes viendront s'agréger en se fixant aux molécules du FvW via le GP Iba. Le FvW joue aussi un rôle dans le transport du FVIII de la coagulation, qu'il protège de la lyse, et qu'il libère par l'action de la thrombine.

1.1.4 Le fibrinogène (FI)

Protéine synthétisée par le foie, très abondante dans le plasma de structure fibreuse, allongée et trinodulaire. Elle est constituée de trois paires de chaînes polypeptidiques : alpha, bêta et gamma. Ces chaînes s'enroulent sur trois endroits pour former trois nodules. Un nodule « D » est situé près de chacune des extrémités de la molécule tandis qu'un nodule « E » se retrouve en son centre. Elle joue un rôle dans l'agrégation plaquettaire et dans la phase finale de la l'hémostase secondaire (transformation en fibrine sous l'action de la thrombine). Il s'agit également d'une protéine de la phase aigüe de l'inflammation. Elle possède une propriété athérogène.

1.2 Le déroulement de l'hémostase primaire

Le processus de l'hémostase primaire survient suite à la vasoconstriction et est initié par le contact entre les plaquettes et le sous endothélium.

1.2.1 L'adhésion plaquettaire

Le dénudement de l'endothélium expose la matrice sous endothéliale qui contient une variété de protéines pouvant initier la réaction d'adhésion plaquettaire. Les principales protéines responsables de l'adhésion plaquettaire sont : Le vWF, le collagène, la fibronectine, la thrombospondine 1, les laminines, les microfibrilles.

L'intensité et la nature de la réaction d'adhésion générée par les protéines précédemment citées n'est pas forcément égale d'une protéine à une autre. Par exemple, Sous certaines circonstances, les plaquettes se lient à la laminine mais ne s'étalent pas sous l'action de celle-ci, tandis que le vWF et la fibronectine provoquent l'adhésion et l'étalement. Le collagène, provoque en plus des ligands précédemment cités la sécrétion des contenus granulaires plaquettaires.

En plus d'interagir avec les plaquettes en initiant leur adhésion, les protéines adhésives interagissent aussi entre elles. Par exemple le FvW, la fibronectine et la thrombospondine toutes se lient au collagène, cette interaction permet en outre que la plaquette adhère à toute une matrice de protéines adhésives.

Etant donné l'existence de plusieurs systèmes de nomenclatures pour identifier les protéines membranaires plaquettaires, un même récepteur peut avoir plusieurs dénominations. Une des plus largement utilisées est la nomenclature basée sur la migration électrophorétique des protéines sur un gel de polyacrylamide, dans lequel la protéine à haut poids moléculaire migre lentement, cette séparation a donné les noms de GP I II III etc. avec GP I comme protéine au plus haut poids moléculaire. Par la suite des gels ayant une capacité à séparer les protéines encore plus importante ont été introduits, s'en sont suivis les dénominations additionnelles ont été utilisées, comme GP Ia, Ib, etc.

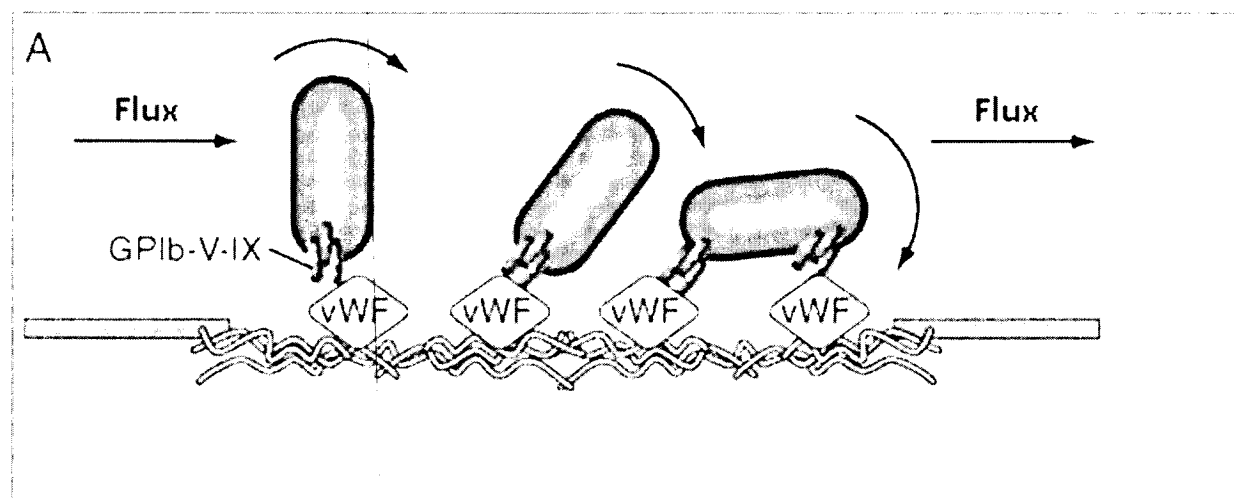
Les noms des récepteurs plaquettaires des protéines adhésives sont décrits dans le tableau ci-dessous.

Ligand	Récepteur(s)	Autres dénominations communes
Collagène	GPIa-IIa, $\alpha_2\beta_1$ GPIIb-IIIa, $\alpha_{IIb}\beta_3$ GPIV GPVI	VLA-2 GPIIb CD36
Fibrinogène	GPIIb-IIIa, $\alpha_{IIb}\beta_3$ Vitronectin receptor, $\alpha_v\beta_3$	
Fibronectine	GPIc-IIa, $\alpha_5\beta_1$ GPIIb-IIIa, $\alpha_{IIb}\beta_3$	VLA-5
Thrombospondine	Vitronectin receptor, $\alpha_v\beta_3$ GPIV	GPIIb CD36

Ligand	Récepteur(s)	Autres dénominations communes
	Integrin-associated protein	IAP
Vitronectine	Vitronectin receptor, $\alpha_v\beta_3$ GPIIb-IIIa, $\alpha_{IIb}\beta_3$	
von Willebrand	GPIb-V-IX GPIIb-IIIa, $\alpha_{IIb}\beta_3$	
Laminine	GP1c-IIa region, $\alpha_6\beta_1$	VLA-6

Tableau 1 : Noms des récepteurs plaquettaires des protéines adhésives

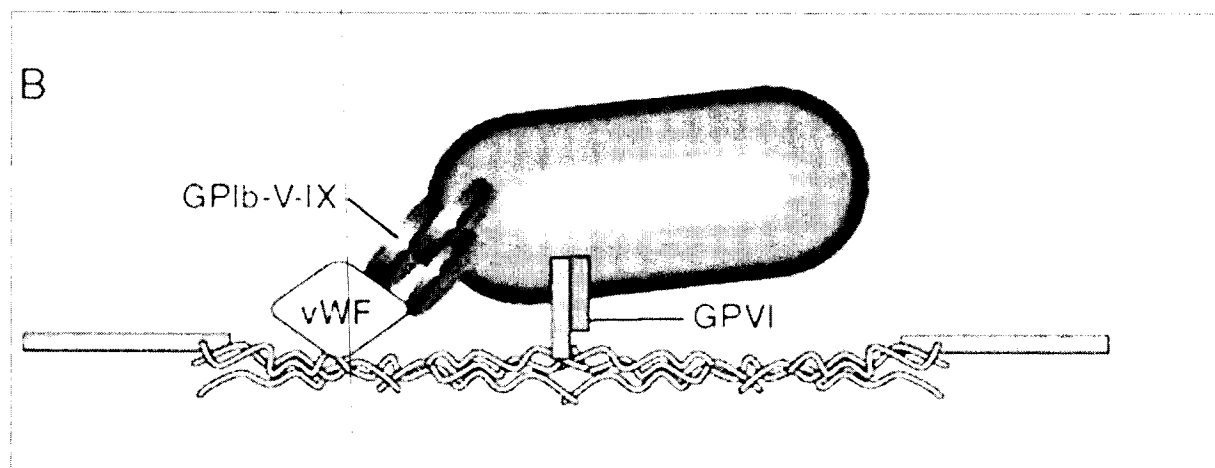
Le schéma ci-dessous illustre l'adhésion de la plaquette au collagène exposé, qui se fait en plusieurs étapes :



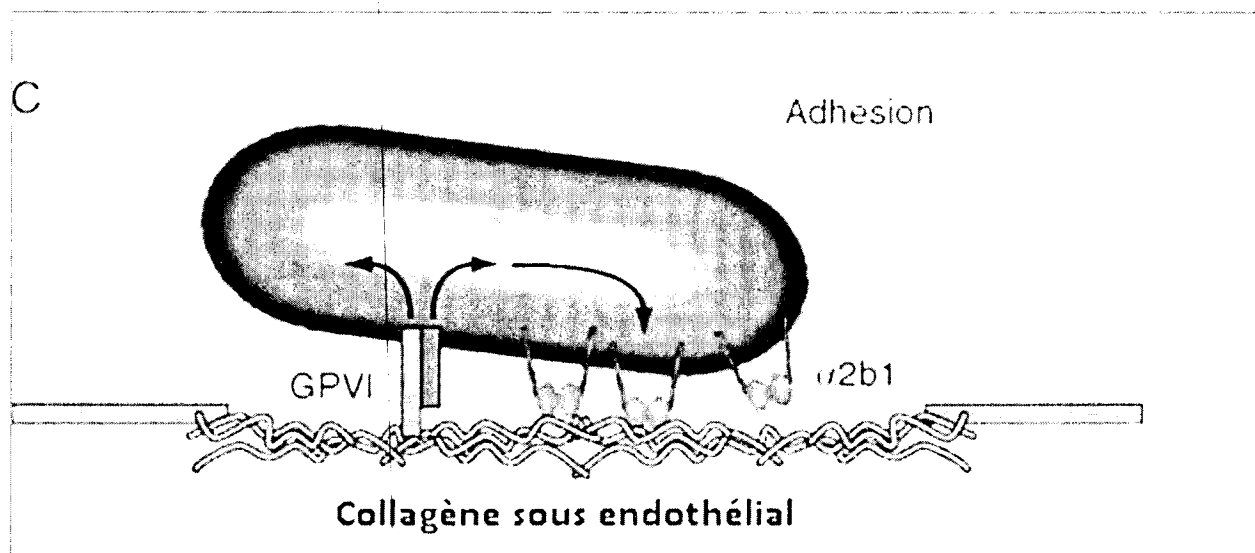
A – Une fois exposé à la paroi vasculaire lésée, le facteur de Willebrand adhère au collagène sous endothélial. Il s'en suit un changement conformationnel du FvW, qui lui permet de se

lier au récepteur plaquettaire GP Ib-V-IX. Cette liaison est rapidement rompue puis rétablie, ce qui permet à la plaquette de rouler le long du collagène.

B – Le roulement va ralentir la plaquette, et permettre au récepteur GP VI de se lier au collagène.



C – Ce processus va causer une série de réactions intracellulaires qui aboutissent à l'activation de l'intégrine $\alpha_2\beta_1$. Cette association finale entre la plaquette et le collagène est stable et permet à la plaquette d'adhérer fermement à la paroi vasculaire.



1.2.2 L'activation plaquettaire

In vivo, l'activation plaquettaire est typiquement initiée par le collagène et la thrombine. Cette activation a lieu au niveau de la lésion vasculaire, mais la même réponse plaquettaire peut avoir lieu dans un contexte pathologique où la thrombine ou autres molécules agonistes de l'activation plaquettaire sont formées et/ou exposées. La thrombine est générée au niveau des lésions vasculaires, après l'exposition du facteur tissulaire présent initialement au niveau sous endothélial, mais qui est aussi exprimé à la surface de cellules endothéliales et monocytes activés, ou transporté dans la circulation sanguine par des microvésicules sécrétés par les monocytes et qui se lient aux plaquettes lorsqu'il y a lésion vasculaire. Dans un contexte pathologique, l'expression du FT, peut être augmentée à la surface de cellules endothéliales et des monocytes à l'état quiescent.

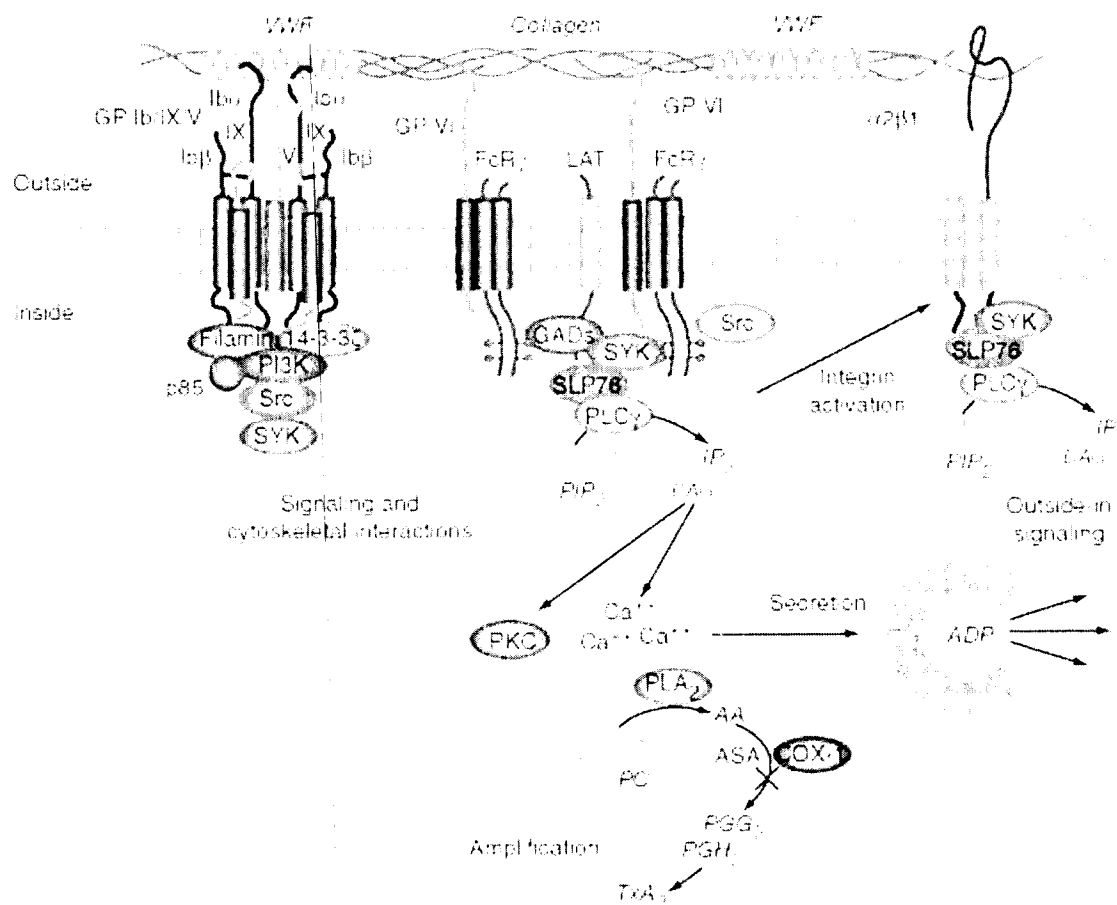


Figure 6 : Schéma illustrant les différents complexes moléculaires grâce auxquels l'activation plaquettaire se fait par le collagène.

Source de l'image : (Lawrence, 2008)

On distingue l'interaction entre le GP Ib/X/V et le collagène par l'intermédiaire du facteur de Willebrand, l'interaction directe entre le GP VI et le collagène qui résulte en l'activation de l'intégrine $\alpha 2\beta 1$ ainsi que l'interaction directe de cette dernière avec le collagène. Il en résulte des modifications morphologiques plaquettaires, une libération intracellulaire de Ca^{+2} qui résulte en la sécrétion de l'ADP, la libération par la PLA₂ de l'acide arachidonique et son métabolisme en TXA₂ ainsi qu'une adhésion solide au collagène. Il est important de noter que la description de l'activation plaquettaire en différentes étapes est purement théorique et artificielle. *In vivo*, l'activation des plaquettes résulte de l'effet d'une série d'agonistes. La lésion initiale expose le collagène et produit de la thrombine. Les tissus et globules rouges endommagés libèrent de l'ADP, de même pour les plaquettes activées qui vont en plus synthétiser et sécréter le TXA₂. Les différents agonistes se couplent à différents récepteurs et initient des voies intracellulaires différentes de signalisation. C'est leur effet combiné qui permet d'aboutir à l'activation plaquettaire optimale. L'effet de la thrombine par exemple dépend aussi et en grande partie de sa capacité à induire la sécrétion de TXA₂ et d'ADP afin d'induire une activation plaquettaire optimale.

1.2.3 La sécrétion plaquettaire

La sécrétion des granules plaquettaires a lieu via des mécanismes analogues à ceux observés dans l'exocytose des granules des neurones et des mastocytes. La sécrétion plaquettaire est déclenchée par une variété d'agonistes forts, tel que la thrombine. L'induction de la sécrétion par des agonistes plus faibles comme l'ADP a lieu lorsque les cellules sont en contact étroit les unes avec les autres, comme c'est le cas lors de l'agrégation plaquettaire. Les derniers stades de la sécrétion sont dépendants du TXA₂ généré suite à la sécrétion de l'acide arachidonique.

Les éicosanoïdes sont formés à partir de l'arachidonate libéré de la membrane phospholipidique par la PLA₂ lors de l'activation plaquettaire. Etant donné que la disponibilité de l'arachidonate est l'élément limitant dans ce processus, l'activité de la PLA₂ est étroitement contrôlée. La PLA₂ est ainsi stimulée par l'augmentation du Ca^{2+} cytosolique qui accompagne l'activation plaquettaire.

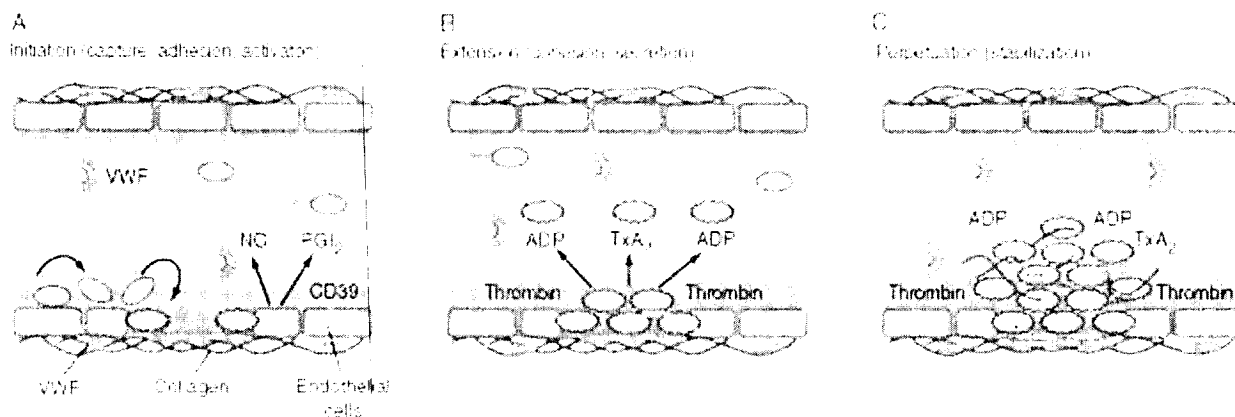
Une fois libéré de la membrane phospholipidique, l'arachidonate peut être métabolisé en TXA₂ par la COX1.

Une fois formé le TXA_2 peut diffuser à travers la membrane plasmatique et activer d'autres plaquettes. Ce processus résulte en une série de changements morphologiques des plaquettes, agrégation, sécrétion, phosphorylation des protéines et une augmentation des concentrations intracellulaires en Ca^{++} avec un léger effet sur la formation d'AMPc. Tout comme l'ADP, le TXA_2 amplifie le stimulus initial de l'activation plaquettaire et contribue au recrutement de nouvelles plaquettes. Bien que ce processus soit efficace localement, il est limité sur la durée et sur la portée par la courte période de demi-vie du Tromboxane A₂, ce qui permet de confiner l'étendue de l'activation et de l'agrégation plaquettaire à la zone originale lésée seulement.

Les catécholamines sécrétés localement ou se trouvant dans la circulation sanguine peuvent causer une vasoconstriction mais aussi potentialiser l'action des autres agonistes plaquettaires.

1.2.4 L'agrégation plaquettaire

La formation de la monocouche plaquettaire à la surface de la paroi lésée suite à l'exposition du collagène et du FvW est suffisante pour initier la formation du clou plaquettaire, mais ne permet pas d'arrêter l'hémorragie. L'étape suivante est l'extension de la couche de plaquettes via l'adhésion de chaque plaquette aux autres, ce processus est techniquement nommé « cohésion » mais est le plus souvent appelé « agrégation plaquettaire ». Le recrutement de plaquettes additionnelles est rendu possible par la sécrétion locale d'agonistes par les plaquettes tels que : l'ADP et le TXA_2 ainsi que par une génération locale de thrombine, comme illustré dans le schéma ci-dessous.



Le contact entre les plaquettes est rendu possible grâce à une variété d'interaction, dont la plus essentielle est la liaison du fibrinogène ou du vWF au $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ activé.

2. L'hémostase secondaire

La coagulation (hémostase secondaire) est une cascade de réactions enzymatiques qui aboutit à la transformation d'une protéine plasmatique soluble appelée : fibrinogène en fibrine insoluble sous l'action de la thrombine. Elle succède théoriquement à l'hémostase primaire mais en réalité, les deux processus sont interdépendants.

Il s'agit d'un phénomène **limité et régulé** par le contrôle négatif des inhibiteurs plasmatiques, **localisé** au niveau de la brèche vasculaire et **rapide** (grâce au processus d'autoamplification) pour permettre la cicatrisation sans l'obstruction de la lumière vasculaire.

2.1 Les intervenant dans l'hémostase secondaire

2.1.1 Les facteurs de la coagulation

N° facteur	Nom	Classe	Lieu de synthèse	Demi-vie	Valeurs normales (mg/l)	Présence/ Abscence dans le sérum
Facteur (I)	Fibrinogène	Substrat final	Foie +++, mégacaryocyte	4-6J	2000-4000	A
Facteur (II)	Prothrombine	Proenzymes (zymogènes) de sérine protéase	Foie	3-4 J	100-150	A
Facteur (VII)	Proconvertine		Foie	4-6H	0,35-0,6	P
Facteur (X)	Facteur Stuart		Foie	1-2J	7-17	P
Facteur (IX)	Facteur antihémophilique B		Foie	24H	3-5	P
Facteur (XI)	PTA : plasma thromboplastin		Foie	1à2J	3-6	P

	Antécédent					
Facteur (XII)	Facteur Hageman		Foie	2à3J	15-45	P
PK	Prékallikréine			35 H	25-50	
Facteur (V)	Proaccélérine		Foie/cellucendothéliale	12-36 H	5-10	A
Facteur (VIII)	Facteur antihémophilique A	Cofacteurs	Foie. mégacaryocyte	10-16H	0,1-0,2	A
KHPM	Kininogène de haut poids moléculaire			6 J	60-90	
Facteur (XIII)	Stabilisant de fibrine	Zymogène d'une transglutaminase	Foie/moelle-placenta	9-11J	20-30	P

Tableau 2 : Les facteurs de coagulation

 Facteurs vitamine K dépendants pour leur synthèse

 Facteurs intervenant dans la voie de contact

➤ *Les zymogènes d'une sérine protéase*

Les facteurs appartenant à cette classe sont le facteur (II), facteur (VII), facteur (IX), facteur (X), facteur (XI), facteur (XII) et PK. Ils ont la particularité d'être tous inactifs. Ils nécessitent d'être activés pour fonctionner.

➤ *Les facteurs vitamine k dépendants*

Il s'agit des facteurs de la coagulation zymogènes d'une sérine protéase : la prthrombine, la proconvertine, le facteur de Stuart et le facteur anti hémophilique B et des inhibiteurs physiologique : protéine C, protéine S et protéine Z.

Après translocation dans le réticulum endoplasmique, le transfert d'un groupement carboxyle sur les résidus acide glutamique a lieu au niveau de la région aminoterminal de chaque précurseur pour donner l'acide gamma carboxyl glutamique. Cette réaction est catalysée par une gamma carboxylase liée à la membrane des microsomes hépatiques et requiert de la vitamine K. Cette dernière est apportée par l'alimentation ou produite par la flore intestinale pénètre l'hépatocyte sous forme inactive et doit être réduite pour jouer son rôle de cofacteur de la gammacarboxylase.

La vitamine k oxydée doit être ensuite transformée par la VKOR (vitamine k époxyde réductase) en vitamine k réduite (régénération).

Cette modification post-traductionnelle confère à la protéine la capacité de se lier aux phospholipides anioniques de la membrane plaquettaire en présence d'ion Ca^{+2} . Le FP3 (facteur plaquettaire 3) apparait à la surface externe de la membrane plaquettaire. Il permet la fixation des facteurs vitamine-K dépendants et leur activation.

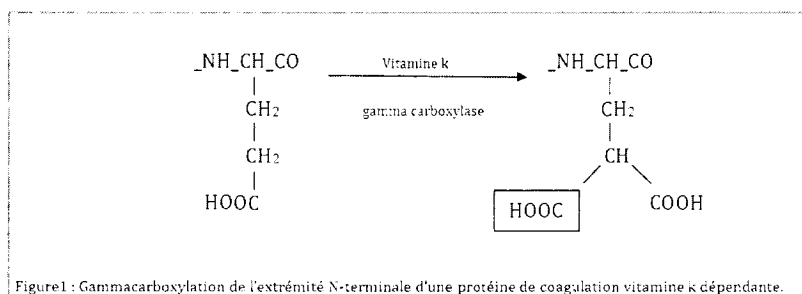


Figure1 : Gammacarboxylation de l'extrémité N-terminale d'une protéine de coagulation vitamine K dépendante.

Figure 7 : Gammacarboxylation de l'extrémité N terminale d'une protéine de coagulation vitamine K dépendante

En l'absence de vitamine K, le foie produit ces facteurs sous une forme non fonctionnelle : PIVKA (Proteins induced by vitamin k absence or antagonist) conduisant à une coagulation inefficace: PIVKA VII, PIVKA II, PIVKA X, PIVKA IX. Ce sont des précurseurs non carboxylés donc inactifs car leur liaison aux phospholipides en présence de calcium est impossible.

➤ Les cofacteurs V et VIII

Ils n'ont pas d'activité enzymatique mais jouent le rôle de cofacteur de la coagulation en stimulant l'activation des autres enzymes de la coagulation.

➤ Le facteur tissulaire

Le facteur tissulaire (FT) est une glycoprotéine transmembranaire ubiquitaire de 261/263 acides aminés contenant trois domaines : un domaine extracellulaire (résidus 1-219), qui représente la partie aminoterminal de la molécule, un domaine transmembranaire (résidus 220-242), qui ancre le FT à la membrane, et un domaine intracytoplasmique qui comporte la séquence carboxyterminale (résidus 243-263).

De nombreuses cellules de l'organisme expriment le FT de manière constitutive. Il est trouvé en grande quantité dans le poumon et le cerveau. Il est exprimé aussi par les cellules des capsules de différents organes comme le foie, la rate, le rein, par les cellules de l'épiderme et celles des muqueuses intestinales et urinaires. Dans les vaisseaux, le FT est trouvé au niveau des fibroblastes de l'adventice; son expression dans les cellules musculaires lisses est faible et inconstante.

Les cellules endothéliales et les monocytes, à l'état normal, n'expriment pas de FT. La répartition constitutive du FT est telle que celui-ci n'est exprimé qu'au niveau des cellules non en contact normalement avec le sang. Celui-ci n'est présent dans les cellules en contact du sang qu'en cas de stimulation pathologique. La topographie de cette répartition constitue, en quelque sorte, une « enveloppe hémostatique » protectrice prête à induire l'activation de la coagulation en cas de brèche vasculaire. En d'autres termes : le facteur tissulaire est l'initiateur de la coagulation en rentrant en contact avec le sang lors d'une lésion.

Le facteur stabilisant de la fibrine (FXIII)

Glycoprotéine de 320 kDa, circulant sous forme d'un tétramère constitué de deux sous-unités A et deux sous-unités B : A₂B₂. Il s'agit d'un zymogène d'une transglutaminase, qui joue une fois activé, un rôle majeur dans la stabilisation du polymère de fibrine.

2.1.2 Les phospholipides et le calcium

Les phospholipides de la couche externe n'ont que très peu de charges négatives contrairement à ceux de la couche profonde : phosphatidylsérine, phosphatidylcholine et phosphatidyléthanolamine. L'activation des propriétés coagulantes membranaire se fait par un mouvement flip flop qui permet la translocation des phospholipides de la couche externe vers

la couche interne. Le dysfonctionnement de ce mécanisme aboutit au syndrome de Scott décrit dans le chapitre suivant. Les phospholipides se lient avec les facteurs de la coagulation et le calcium leur sert de ligand.

Les ions calcium établissent des ponts entre les facteurs de la coagulation et les phospholipides membranaires endothéliaux ou plaquettaires. Il suffit donc de complexer le calcium du sang, par exemple par du citrate de sodium, pour le rendre incoagulable. Cette propriété est mise à profit dans les tubes de prélèvement destinés au bilan de l'hémostase.

2.2 Mécanisme de la coagulation

In vitro, on distingue deux voies d'activation de la coagulation :

-La **voie endogène** (ou intrinsèque) qui se déclenche lorsque le sang est mis en contact avec une surface chargée négativement.

-La **voie exogène** (ou extrinsèque) qui se manifeste lors de l'exposition du sang au facteur tissulaire.

La distinction entre ces deux voies est artificielle. Elle permet de faciliter l'exploration biologique car la voie intrinsèque et la voie extrinsèque sont respectivement explorées par le temps de céphaline activée et le temps de Quick et l'orientation du diagnostic en cas de pathologies (anomalie de la voie endogène ou exogène).

Le déroulement de la coagulation *in vivo* ne respecte pas cette distinction de voies. *In vivo*, l'initiation de la coagulation est activée lorsque le facteur tissulaire émerge à la surface cellulaire, soit lors d'une lésion vasculaire soit par le biais d'agents stimulants (endotoxines, cytokines ...). Physiologiquement, les deux voies sont corrélées et interdépendantes l'une de l'autre.

2.2.1 La voie extrinsèque

a. L'initiation de la coagulation :

Le facteur tissulaire a une forte affinité pour le FVII lors d'une lésion vasculaire. Les deux protéines forment un complexe équimolaire [FVII activé - FT] en présence d'ions Ca^{+2} .

Remarque : il existe une toute petite quantité préalable de FVII déjà activé dans le plasma mais qui en l'absence de FT a très peu d'activité enzymatique.

A partir de la formation du complexe, deux voies d'activation sont possibles :

- Si le FT est en excès : le complexe [FVII activé - FT] active directement le facteur X (FX).

Remarque : cette voie peut être rapidement inhibée par l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire, le TFPI, en formant un complexe quaternaire (FT- FVIIa- FXa-TFPI).

Si le FT est en faible quantité (ou l'inhibition par le TFPI prépondérante) : le complexe [FVII activé - FT] active alors le facteur IX (FIX). Le FIXa généré contrairement au FXa inhibé par le TFPI peut facilement diffuser au contact des plaquettes activées.

Cette voie étant rapidement inhibée, aboutit à de très faibles quantités de thrombine, qui est insuffisante pour assurer une hémostase efficace mais suffisante pour :

* Activer les cofacteurs V et VIII et dissocier le facteur VIII du FvW.

* Activer le facteur XI et il s'en suit l'activation du facteur IX ce qui entraîne la succession de réactions enzymatiques qui aboutissent au point central : la génération de FXa qui a le pouvoir de générer de la thrombine à partir de la prothrombine.

b. La thrombinoformation

Le FXa permet la formation d'une première quantité de prothrombinase en présence du facteur Va, de phospholipides anioniques à la surface des plaquettes activées, et de calcium. Le complexe s'appelle le **complexe prothrombinase**. Le complexe prothrombinase active la prothrombine (FII) en thrombine (FIIa). La thrombine est une enzyme extrêmement puissante. Son substrat principal est le fibrinogène. La thrombine, outre son action sur le fibrinogène, catalyse sa propre génération (phénomène d'amplification) en favorisant la génération de FVIIIa, FVa et FXIa (voir voie de contact). Elle active également le facteur XIII qui va jouer un rôle majeur dans la stabilisation du caillot.

c. La fibrinoformation

La thrombine est l'enzyme clé de la fibrinoformation, transformant le fibrinogène en fibrine. Elle détache les chaînes alpha et bêta du fibrinogène des fragments terminaux appelés : fibrinopeptides A et B. La molécule est alors sous la forme d'un monomère de fibrine.

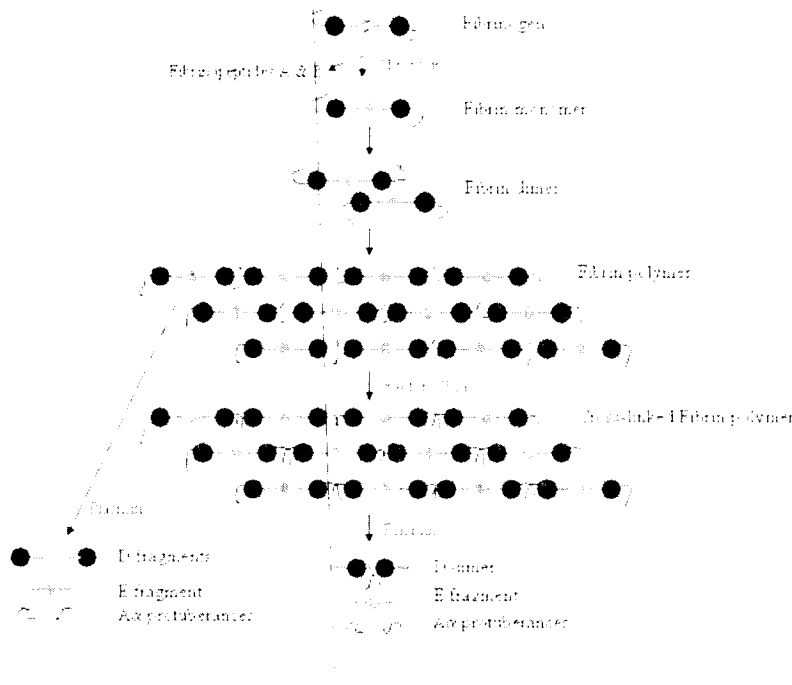


Figure 8 : Formation, polymérisation et stabilisation de la fibrine.

Source de l'image :
(McDowall, 2006)

La polymérisation réversible se fait grâce à des liaisons hydrogène non covalentes entre le nodule E central du monomère et les nodules D situés aux deux extrémités des monomères voisins et aboutit à un polymère de fibrine encore instable.

Le FXIII, une fois activé par la thrombine (FXIIIa) crée en présence de calcium des liaisons covalentes entre les monomères de fibrine adjacents afin de stabiliser et consolider le polymère de fibrine désormais insoluble. Le caillot, formé du réseau de fibrine et des éléments figurés du sang permet l'arrêt du saignement.

2.2.2 La voie intrinsèque (voie de contact)

Le système contact est composé de : le FVIII, le FIX, le FXI, le FXII, , la prékallicréine et le kininogène de haut poids moléculaire.

La voie intrinsèque est également appelée la voie d'activation de contact car elle s'active lorsqu'elle est au contact d'une surface chargée négativement. Elle semble jouer un rôle

moins important pour l'hémostase dans les conditions physiologiques normales, que ne l'est la voie extrinsèque.

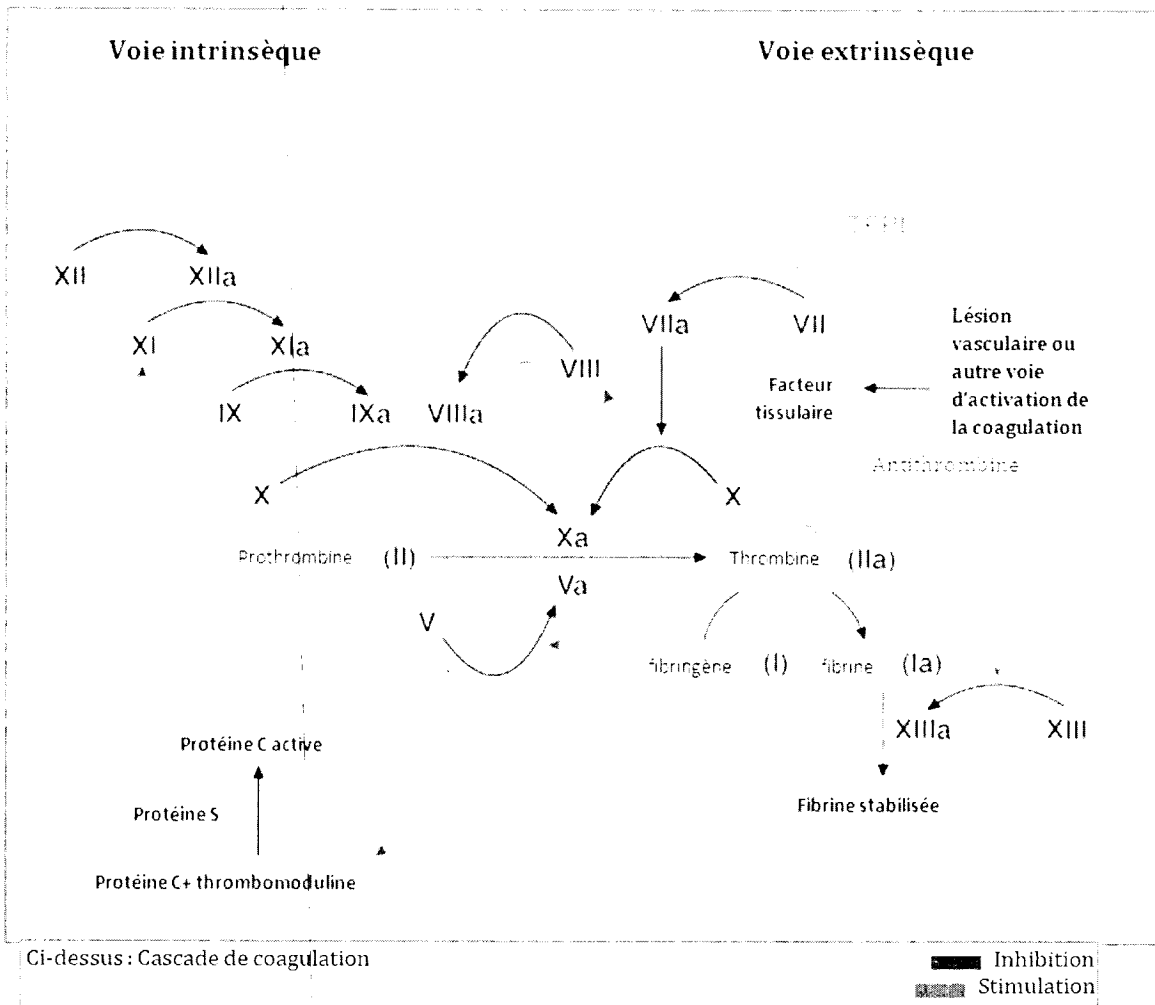


Figure 9 : Schéma illustrant la coagulation sanguine

Source de l'image : Wikipédia

2.3 Régulation de la coagulation

2.3.1 La régulation négative

La régulation physiologique négative de la coagulation est indispensable pour la limiter dans l'espace et dans le temps, afin d'éviter la formation de thromboses intra-vasculaires. Les inhibiteurs physiologiques de la coagulation agissent en formant des complexes inactifs avec les différents enzymes de la coagulation. Ce sont : le système de la protéine C, l'antithrombine, l'alpha 2 macroglobuline, le second cofacteur de l'héparine (HCII), l'alpha 1 anti-trypsin, le TFPI et l'inhibiteur de la C1 estérase.

❖ Les serpins

Les serpins sont des protéines qui ont des structures hétérogènes et des fonctions diverses. Ce sont pour leur grande majorité des inhibiteurs de protéase impliqués dans de nombreux processus biologiques essentiels comme la coagulation du sang, le remodelage de la matrice, la différenciation cellulaire, la fibrinolyse, la mort cellulaire programmée, le développement et l'inflammation.

Les serpins qui interviennent dans la régulation négative de la coagulation sont :

○ *L'antithrombine (AT)*

L'AT -anciennement appelée ATIII- est synthétisée au niveau hépatique. Elle se fixe aux **héparanes-sulfates** de la paroi vasculaire et inhibe les sérine-protéases qui diffusent à distance de l'amas plaquettaire : thrombine, facteur Xa principalement, mais aussi les facteurs IXa, XIa et XIIa. Ces enzymes échappent au contrôle de l'AT tant qu'elles sont liées aux **phospholipides** de la membrane plaquettaire ce qui a pour conséquence de prolonger la production de thrombine au niveau du caillot hémostatique.

L'AT agit en formant avec chacune de ces sérines protéases un complexe équimoléculaire qui implique le site actif de l'enzyme et le site réactif de l'AT. Le site réactif Arg 393-Ser 394 de l'AT, situé dans la région carboxy-terminale de la molécule, est scindé par la sérine protéase, mais à la différence d'une réaction enzyme/substrat simple, la scission est suivie de l'établissement d'une liaison ester covalente entre la sérine active de l'enzyme et l'arginine du site réactif de l'AT. Le complexe formé, est **irréversible et inactif**. Il se détache ensuite de

l'héparane-sulfate et va se fixer sur un récepteur de l'hépatocyte pour être internalisé. L'héparane-sulfate est alors à nouveau disponible pour fixer l'AT.

L'AT a une action lente et progressive, mais cette action est fortement potentialisée par l'héparine qui possède une forte analogie structurale avec l'héparane sulfate retrouvé à la surface de l'endothélium. La liaison de l'héparine à l'AT cause un changement conformationnel qui fait surgir la glycosaminoglycane à la surface de l'inhibiteur. Le complexe héparine-antithrombine réagit par conséquent rapidement sur la protéase ciblée. Cette interaction réduit l'affinité de l'AT pour l'héparine permettant ainsi sa libération pour catalyser la formation d'autres complexes antithrombine -protéase (Joseph & Andrew I., 2003). On peut en conclure que l'héparine agit comme un cofacteur pour L'AT. C'est pour cette raison que le traitement par l'héparine peut devenir inefficace en cas de taux nettement inférieurs à 50-60 % d'AT.

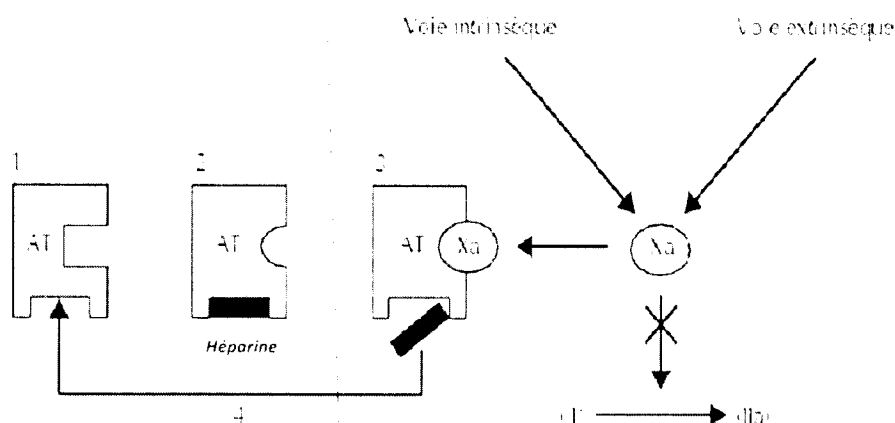


Figure 10 :
Action
catalytique
de
l'héparine
sur
l'inactivation
du facteur
Xa par
l'antithrom-
bine.

○ *Le second facteur de l'héparine (HCII)*

Il s'agit d'un inhibiteur de sérine protéase, synthétisé par le foie. Il inhibe la thrombine mais aucune autre protéase de la coagulation ou de la fibrinolyse. Son action est similaire à celle de l'antithrombine III et est potentialisée par l'héparine, l'héparane sulfate et la dermatane sulfate. Sa concentration plasmatique est faible de l'ordre de 1.2 micromoles. Son rôle inhibiteur semble mineur et son déficit ne présente pas une majoration significative du risque thromboembolique. Toutefois, il peut contribuer à aggraver une thrombophilie préexistante.

- *L'alpha 1 antitrypsine*

Synthétisée par le foie, elle inhibe le Facteur XIa, la thrombine, la kallikreine, le plasmin et la protéine C.

- *Le C₁ inhibiteur*

Le complément C1 estérase inhibiteur est une protéine sérique ayant pour rôle majeur la régulation de la voie classique du complément. Il possède également un rôle d'inhibiteur dans la coagulation et la fibrinolyse en agissant sur la kallikréine, la plasmin, le facteur XIIa et le facteur XIa.

- ❖ *L'alpha 2 macroglobuline*

L'alpha 2-macroglobuline forme des complexes avec des endopeptidases de différentes classes catalytiques. Les enzymes complexées sont englobées par l'inhibiteur et deviennent incapables d'exercer leur action vis-à-vis de leur(s) substrat(s) macromoléculaire(s). Parmi les protéases de la coagulation, l'alpha2-macroglobuline inhibe la thrombine et la kallikréine. Elle intervient pour environ 25% dans l'inhibition de la thrombine.

- ❖ *Le TFPI (Tissu factor pathway inhibitor) : inhibiteur de la voie du FT*

La voie du facteur tissulaire est régulée par un inhibiteur plasmatique produit par la cellule endothéliale, le TFPI. La répartition intra-vasculaire du TFPI est constituée de trois pools : les cellules endothéliales : pool majeur du TFPI, le TFPI lié aux lipoprotéines et le TFPI plaquettaire sécrété lors de l'activation plaquettaire. On peut en conclure que le TFPI circule sous deux formes : Une forme liée aux lipoprotéines et une forme libre. Seule la forme libre est capable d'inhiber la coagulation.

Son extrémité amidoterminal est constituée de trois domaines de type Kunitz et est chargée négativement contrairement à son extrémité carboxyterminale, chargée positivement. Le domaine kunitz 1 est chargé de l'inhibition du complexe FVIIa/FT, tandis que le domaine Kunitz 2 assure la liaison au FXa ainsi que l'inhibition de celui-ci. Le domaine Kunitz 3 est dépourvu d'activité inhibitrice sur les sérines protéases.

L'inhibition se fait en deux étapes nécessitant pour se déclencher que le FXa ait été produit. Le TFPI forme d'abord un complexe binaire avec le FXa en se liant sur le site sérine protéase. Mis à part le domaine Kunitz 2, l'extrémité C-terminale du TFPI joue un rôle dans l'inhibition du FXa. Dans un second temps, le complexe se lie au complexe FVIIa/FT grâce à l'établissement d'une liaison entre le centre réactif du domaine Kunitz 1 du TFPI et le FVIIa. Il se forme ainsi un complexe quaternaire facteur Xa/TFPI/FVIIa/FT, au sein duquel le facteur Xa, le facteur VIIa et le facteur tissulaire n'ont plus d'activité.

L'héparine potentialise l'action du TFPI de deux façons :

1-En accélérant l'inhibition du FXa par le TFPI.

2- En augmentant la concentration plasmatique du TFPI sous forme libre. La source présumée de ce taux surajouté de TFPI est l'endothélium.

❖ Le système de la protéine C (PC)

Le système de la protéine C est un système majeur dans l'inhibition de la coagulation, puisque tout déficit en l'un de ses participants se traduit par un risque de thrombose. (Dahlbäck, 1995). Le système de la protéine C requiert deux protéines plasmatiques dont la synthèse est vitamine K dépendante (la protéine C « PC » et la protéine S) et deux récepteurs endothéliaux : la TM et l'EPCR. La protéine C est synthétisée par le foie alors que la protéine S est synthétisée par le foie, les cellules endothéliales et les mégacaryocytes.

Pour être capable de jouer son rôle d'inhibiteur de la coagulation, la PC doit préalablement être activée en PC activée (PCa). Cette activation se fait par clivage d'un peptide de 12 acides aminés (peptide d'activation) à partir de l'extrémité N-terminale de la chaîne lourde de la PC par scission d'une seule liaison peptidique (Arg 12-Leu). C'est la thrombine fixée sur la TM, qui est responsable du clivage et donc de l'activation de la PC.

En effet, en se fixant à la TM, la thrombine perd ses propriétés procoagulantes et acquiert des propriétés anticoagulantes: elle devient capable d'activer la protéine C.

C'est dans la microcirculation que l'activation de la protéine C est la plus efficace parce que le rapport entre la surface endothéliale (TM) et le sang contenu y est maximal. (Jobin, 1995).

La PCa exerce une action protéolytique vis-à-vis des cofacteurs Va et VIIIa. La réaction nécessite que l'enzyme (PCa) et les substrats (Va et VIIIa) soient fixés sur les phospholipides anioniques exposés à la surface des plaquettes activées, en présence de calcium et d'un cofacteur protéique : la protéine S.

La protéine S est une protéine non enzymatique. Elle se trouve sous forme liée à la C4b-BP du système du complément (60%) ou sous forme libre (40%). Seule la **forme libre** est **active** en tant que cofacteur de la protéine C. Dans l'inflammation et dans d'autres affections, la concentration plasmatique du C4b-BP peut augmenter et réduire ainsi le rendement thrombotique de la protéine S. (Jobin, 1995). La protéine C4b-BP en se liant à la protéine S, diminue sa fraction libre, la seule étant fonctionnelle. La protéine S exerce son rôle de cofacteur dans l'hydrolyse des cofacteurs Va et VIIIa en augmentant l'affinité de la protéine C activée pour les phospholipides anioniques exposés à la surface des plaquettes activées ou des cellules endothéliales stimulées, favorisant la formation du complexe Protéine C- sérine protéase à la surface des membranes et donc leur interaction. Indépendamment de la présence de protéine C activée, la protéine S est capable d'inhiber la prothrombinase, le complexe intrinsèque et d'interagir directement avec les facteurs Va et VIIIa.

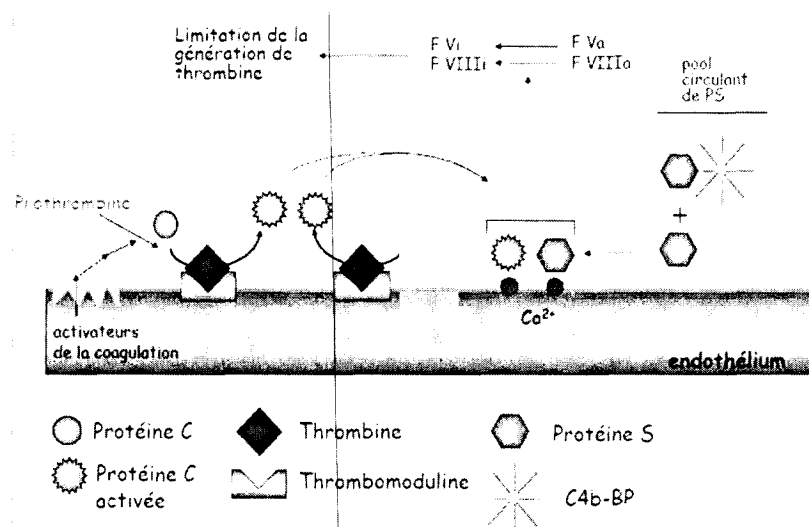


Figure 11 : La régulation négative du système de la protéine C

❖ L'inhibiteur dépendant de la protéine Z

L'inhibiteur dépendant de la protéine Z inhibe le facteur Xa de la coagulation à la surface des phospholipides, en présence de calcium et de protéine Z. La protéine Z augmente d'environ 1 000 fois la vitesse d'inhibition du facteur Xa par le ZPI.

L'association de protéine Z et de ZPI retarde de façon très importante la génération de thrombine en milieu purifié contenant de la prothrombine, du facteur V, des phospholipides et du calcium. Toutefois l'effet inhibiteur du complexe Protéine Z-ZPI disparaît quand du facteur Va est mis dans le milieu d'incubation, suggérant que l'activité anticoagulante de la protéine Z et du ZPI doit précéder l'activation du facteur V et la formation de la prothrombinase. (Han, Fiehler, & Jr., 2000).

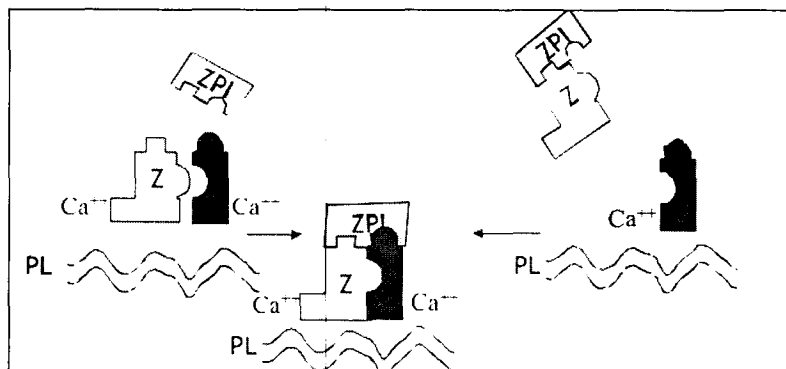


Figure 12 : Action de la protéine Z et du ZPI dans l'inhibition du FXa.

Source de l'image : (Magy, 2007)

2.3.2 La régulation positive

Les multiples rétroactions positives de la thrombine constituent de puissantes boucles d'amplification qui accroissent de façon marquée les réactions enzymatiques en amont. Elle exerce une **rétroaction positive** sur sa propre formation (**autogénération**) via l'activation des facteurs V et VIII et possiblement le facteur XI. Le rôle physiologique de la voie intrinsèque serait le soutien de la production suffisante de thrombine lors de besoins hémostatiques d'envergure.

3. La fibrinolyse

Il s'agit d'un processus physiologique qui permet la dissolution progressive du caillot de fibrine formé au niveau de la brèche vasculaire sous l'action d'une enzyme protéolytique : la plasmine, issue de la transformation du plasminogène. A l'état normal, il existe un équilibre entre la coagulation et la fibrinolyse.

3.1 Facteurs du système fibrinolytique

3.1.1 Le plasminogène

Glycoprotéine constituée **d'une seule chaîne polypeptidique** comprenant 791 acides aminés et 24 ponts disulfures. Elle comprend 7 domaines structuraux. Elle est constituée d'un Peptide de réactivation (PAP) de l'AA₁ à l'AA₇₇ (premier domaine) et de cinq séquences (boucles) homologues appelées: **Kringles** (k1 à k5) sur l'extrémité N-terminale (5 domaines).

Chaque kringle est formé d'environ 80 acides aminés et comprend trois ponts disulfures intramoléculaires. Les kringles confèrent au plasminogène sa capacité de se lier aux résidus lysine (LBS: lysine binding site) de la fibrine et de l'alpha2-antiplasmine ou d'autres glycoprotéines comme le collagène, le kininogène, etc. Le dernier domaine, situé sur l'extrémité C-terminale de la chaîne comporte le site catalytique (responsable de l'activité protéolytique): formé des acides aminés (562 à 791).

La forme native du plasminogène est le **Glu-plasminogène** qui possède un acide glutamique à son extrémité N-terminale. Le plasminogène est synthétisé par le foie essentiellement, mais les polynucléaires éosinophiles, la cornée et le rein sont également capables de le synthétiser.

3.1.2 La plasmine

Elle dérive de la transformation du plasminogène par clivage du plasminogène au niveau de la liaison Arg 561-Val562 pour donner deux chaînes polypeptidiques A et B réunies par deux ponts disulfures (*Voir figure ci-dessous*).

- une forme bicaténaire à deux chaînes polypeptidiques obtenue après clivage de la forme native par la plasmine au niveau de la liaison Arg275-Ile276.

Le t-PA est synthétisé principalement par les cellules endothéliales, mais il est également produit par d'autres cellules comme les macrophages, les mégacaryocytes, les cellules mésothéliales, les mastocytes, les fibroblastes cardiaques et les neurones.

Le t-PA a pour rôle principal comme son nom l'indique l'activation du plasminogène (catalyseur). Il exerce des rôles secondaires non enzymatiques comme la stimulation de la prolifération des cellules endothéliales (grâce à son domaine homologue EGF) et un rôle dans l'inflammation.

❖ La pro-urokinase et urokinase (u-PA)

La pro-urokinase ou scu-PA (single chain urinary-type plasminogen activator) est une protéine constituée de 411 acides aminés et 11 ponts disulfures produite par les cellules rénales, les polynucléaires neutrophiles et les monocytes/macrophages. Elle est éliminée dans l'urine. La pro-urokinase est considérée comme le précurseur de l'enzyme : l'urokinase. C'est donc un zymogène. Cependant, la pro-urokinase peut convertir le plasminogène en plasmine. La plasmine, à son tour, active l'urokinase, car elle clive la liaison peptidique Lys158 - Ile159 et convertit la pro-urokinase en urokinase ou tcu-PA (two chain urinary-type plasminogen activator) constituée de deux chaînes polypeptidiques. La plasmine constitue la principale voie d'activation de la pro-urokinase mais la kallicréine, le facteur de coagulation sanguine XII, etc. sont également capables de l'activer. L'u-PA est un système d'activation secondaire du plasminogène, moins important que celui du t-PA.

❖ Le système activateur dépendant du FXII

Le FXII en présence du KHPM est capable de transformer la prékallicréine en kallicréine, capable à son tour de transformer la pro-urokinase en urokinase dont le rôle sur la fibrinolyse a été cité précédemment.

3.2.2 Les inhibiteurs physiologiques de la fibrinolyse

Noms	Structure	Lieu de synthèse	Cibles	Mode d'action
L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type1 (PAI ₁)	Glycoprotéine de la famille des serpins formée d'une seule chaîne polypeptidique à 379 AA sans ponts disulfures.	Principalement : cellules endothéliales. Autres : hépatocytes, cellules musculaires lisses, mégacaryocytes, monocytes, cellules du stroma du tissu adipeux. *95% du PAI₁ forme circulante (compartiment plasmatique). Autre localisation : granules α plaquettaires.	- t-PA mono ou bicentenaire - u-PA -pas d'effets sur la pro-urokinase.	Site actif : au niveau de l'extrémité C-terminale. ✓ Rôle principal : antifibrinolytique. Formation d'un complexe inactif réversible avec sa cible qui évolue lentement vers un complexe irréversible et stable (après coupure de la liaison Arg-Met). ✓ Rôle secondair Dans les phénomènes d'adhésion et de migration cellulaire (forte affinité pour la vitronectine).

L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 2 (PAI2)	Protéine Appartenant aux serpines. Existe sous deux formes : glycosylée (forme sécrétée) et non glycosylée (forme intra- cellulaire).	Principalement : monocytes.	Principalement : urokinase++ Autre : t-PA (affinité 5fois moindre) -pas d'effets sur la pro- urokinase.	Inhibition moins efficace que celle obtenue par le PAI ₁ .
L'inhibiteur de la fibrinolyse activable par la thrombine (TAFI)	Glycoprotéine (procarboxypepti- dase B)	foie	Fibrine partiellement dégradée	-Zymogène activé par la thrombine en présence de la thrombomoduline. -Le TAFI détache les résidus Lysine au niveau C-terminal de la fibrine en cours de dégradation, réduisant ainsi la fixation du plasminogène à la fibrine.
Alpha₂ antiplasmine	Glycoprotéine	foie	Plasmine (action rapide) Plasminogène Fibrine (Action plus	Elle exerce trois fonctions : -Inhibition de la plasmine par fixation sur ses sites LBS. -Limitation de la liaison

			lente)	plasminogène-fibrine. -Liaison covalente avec la chaîne alpha de la fibrine.
Alpha₂ macroglobuline	Glycoprotéine de quatre sous-unités reliées deux par deux par des ponts disulfures.	foie	Nombreux composants du système fibrinolytique	Action lente et peu efficace.
C1 Inhibiteur	Glycoprotéine fortement glycosylée	hépatocytes, fibroblastes, monocytes, cellules endothéliales.	Plasmine kallicréine	Fait intervenir la voie de contact.
Glycoprotéine riche en histidine (HRGP)	Protéine contenant une séquence riche en histidine (AA330-AA389)	foie	plasminogène	Forme un complexe réversible avec 50% du plasminogène plasmatique par l'intermédiaire de LBS1 et réduit la quantité de plasminogène capable de se fixer à la fibrine pendant la coagulation.
Lipoprotéine (a)	-Homologie structurale avec	foie		-Entre en compétition avec le plasminogène et le t-

	le plasminogène -Constituée d'une partie lipidique riche en esters de choestérol et d'une partie protéique. -Important polymorphisme de poids moléculaire.			PA pour se fixer aux résidus Lys terminaux de la fibrine. -Propriétés antifibrinolytique et athérogène. -Un taux élevé de Lp (a) est un facteur de risque de maladie cardiovasculaire.
--	---	--	--	---

Tableau 3 : Inhibiteurs physiologiques de la coagulation

3.3 Mécanisme de la fibrinolyse

A l'état normal dans le sang circulant, il n'y a pas de génération de plasmine : le t-PA ayant peu d'action sur le plasminogène en l'absence de fibrine et la pro-urokinase n'ayant pas d'activité enzymatique.

Lors de l'apparition d'un caillot de fibrine, l'organisme réagit en mobilisant le plasminogène et ses activateurs. La fibrine déclenche le processus de fibrinolyse se déclenche dès qu'elle se forme.

Le t-PA agit sur le plasminogène en clivant la liaison Arg561-Val562. Son activité est potentialisée à la surface de la fibrine par sa liaison au plasminogène. En effet, en présence du plasminogène, l'affinité du t-PA est 20 fois plus élevée en comparaison avec celle obtenue en son absence. Ceci s'explique par deux probabilités : soit par la formation du complexe : (t-PA_plasminogène_fibrine), soit par une plus forte fixation du t-PA au plasminogène qui s'est déjà fixé à la fibrine et a subi un changement de configuration.

Le plasminogène activé devient dès lors plasmine. La plasmine ainsi fixée à la fibrine par les sites LBS et par son site actif commence la digestion protéolytique de la fibrine. La plasmine

est à l'abri de ses inhibiteurs qui ne peuvent la neutraliser que lorsqu'elle se libère de la fibrine.

La protéolyse de la fibrine donne naissance progressivement aux produits de dégradation de la fibrine (PDF) et aux D-dimères qui constituent les produits finals de la dégradation de la fibrine. D'ailleurs, il s'agit de produits de dégradation spécifiques de la fibrinolyse et leur dosage occupe une place importante dans l'approche sémiologique des maladies thromboemboliques. En résumé, le taux plasmatique des D-dimères est un bon reflet de la fibrinolyse.

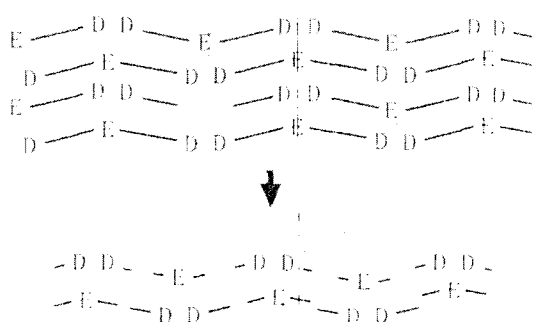


Figure 14 : Formation des D-dimères.

La plasmine dégrade les liaisons entre les domaines D et E mais ne peut pas dégrader les liaisons entre les domaines D.

Par contre, dans certaines circonstances pathologiques comme la libération massive de t-PA ou le dépassement des capacités inhibitrices du système fibrinolytique, il peut se former de la plasmine libre entraînant une destruction du fibrinogène (syndromes fibrinolytiques). La dégradation du fibrinogène (fibrinogénolyse) a lieu donc seulement à l'état pathologique. Le fibrinogène est par conséquent la deuxième cible de la plasmine après la fibrine. Les produits de dégradation du fibrinogène sont de deux types : Les produits de dégradation précoces (X et Y) et les produits de dégradation tardifs (D et E). La plasmine agit en détachant les fibrinopeptides pour donner le fragment X lequel donne après digestion enzymatique les fragments Y et D. le fragment Y est scindé en deux fragments : D et E. Par conséquent, le dosage des PDF est un bon reflet de la fibrinogénolyse.

Dans les vaisseaux sanguins, une lésion endothéliale active localement le système contact par l'interaction du facteur XII avec le sous-endothélium. L'activation de cette voie génère le FXIIa, capable de convertir le plasminogène et la prékallikréine en plasmine et en kallikréine qui convertissent la pro-urokinase en urokinase. Au cours de la génération de thrombine, une partie forme un complexe avec la thrombomoduline. Ce complexe active d'une part le

système de la protéine C qui inhibe la coagulation et d'autre part le TAFI dont le mode d'action a été décrit sur le tableau cité ci-avant.

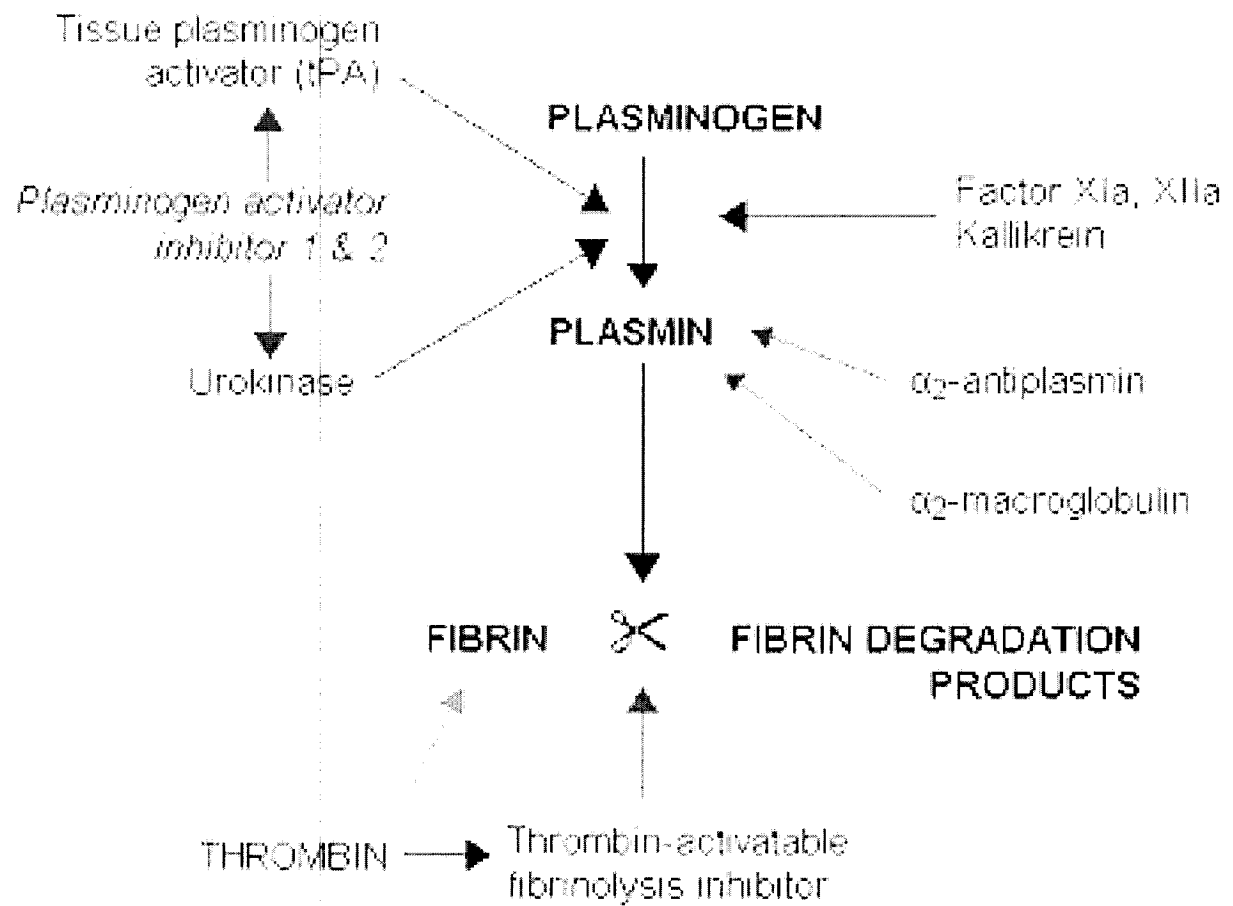


Figure 15 : schéma illustrant le mécanisme de la fibrinolyse

4. Les tests d'exploration de l'hémostase

4.1 Phase pré-analytique

La fiabilité des résultats obtenus dépend du respect des conditions pré-analytiques.

4.1.1 L'anamnèse et la fiche de renseignement

L'anamnèse est d'une importance capitale. Bien menée, elle peut être considérée comme l'un des meilleurs moyens de dépistage d'une coagulopathie.

Elle a pour but de recueillir un ensemble d'informations pouvant être nécessaires dans le diagnostic biologique, elle doit porter sur :

- Les informations relatives au patient : nom, âge et sexe.
- Les antécédents médicaux généraux du patient pour mettre en évidence une pathologie susceptible d'entraîner une anomalie de l'hémostase (malnutrition, insuffisance hépatique, ...).
- Les antécédents médicaux hémorragiques ou thrombotiques personnels du patient, leurs conditions d'apparition, l'âge de leur première survenue, leur fréquence, leur caractère spontané ou provoqué, leur gravité.
- Les antécédents médicaux familiaux qui peuvent informer sur l'existence de maladies héréditaires. Il est utile d'établir un arbre généalogique en notant le type d'anomalie observée, son caractère spontané ou provoqué, ainsi que les éventuelles pathologies déjà diagnostiquées.
- La liste exhaustive de médicaments dans les 10 jours précédant le prélèvement.

Ces informations doivent être communiquées au laboratoire d'analyses médicales via une fiche de renseignement (*Voir **annexe 01***).

4.1.2 Le prélèvement sanguin destiné au bilan de l'hémostase

Les bonnes conditions du prélèvement, de son transport ou de son stockage sont essentielles pour la fiabilité des tests.

Les conditions idéales requièrent que le patient soit au repos **le matin à jeun**, voir après un petit-déjeuner sans matières grasses. Une forte lactescence du plasma peut interférer avec les tests photométriques.

Le prélèvement se fait au niveau du coude après utilisation d'un garrot peu serré. Le site de ponction veineuse doit être éloigné de toute perfusion. Les premiers millilitres de sang, potentiellement contaminés par des substances procoagulantes lors de l'effraction vasculaire, doivent être rejetés. Le prélèvement peut se faire également sur cathéters après le rejet de 5 à 10ml de sang.

Dans le cas où plusieurs tubes doivent être prélevés, celui destiné aux tests d'hémostase doit être intercalé en **seconde position** préférablement. La première place n'est donc pas la meilleure pour le tube d'hémostase, mais la dernière l'est encore moins : l'effraction prolongée de la paroi endothéliale par l'aiguille de prélèvement peut entraîner une activation ou une lésion de l'endothélium. De nombreux facteurs, inhibiteurs ou activateurs de l'hémostase primaire, de la coagulation ou de la fibrinolyse peuvent alors être relégués par l'endothélium, susceptibles de perturber les résultats des tests d'hémostase

Le risque de contamination du prélèvement d'hémostase par l'anticoagulant contenu dans le tube précédent est rare mais réel. Il est donc déconseillé de prélever le tube d'hémostase après un tube contenant des anticoagulants forts type héparine ou EDTA. Le prélèvement d'hémostase effectué après un prélèvement sur tube sec est préférable.

Le sang est recueilli dans des tubes en plastique ou en verre siliconé, contenant une solution anticoagulante de **citrate de sodium 0,109M**. Dans les cas d'un hémocrite très augmenté (hémococoncentration ou patients polyglobuliques), il peut être nécessaire de diminuer le volume d'anticoagulant lors du prélèvement.

Dans certains cas comme l'étude des marqueurs d'activation plaquettaire, exploration de la fibrinolyse, surveillance des traitements par héparine, le citrate de sodium peut être additionné d'inhibiteurs de l'activation de la sécrétion plaquettaire (CTAD : citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole). Lors du suivi des traitements thrombolytiques il peut être utile d'ajouter au citrate de sodium de l'aprotinine pour bloquer la fibrinolyse (100 à 500 UI/ml de

sang). Il faut éviter que le plasma soit dilué par l'anticoagulant liquide, par la suite il faut agiter par retournements lents.

Le tube doit être rempli jusqu'au repère de remplissage identifié sur le tube et doit impérativement respecter la proportion : **9 volumes de sang pour 1 volume d'anticoagulant**. Tout tube ne respectant pas ces proportions est rejeté.

Etant donné la fragilité de certains facteurs de la coagulation, l'acheminement du tube de prélèvement au laboratoire doit être le plus rapide possible. Le tube de prélèvement transporté en **position verticale** à une température de **18 à 22°** doit être utilisé avant un **délai de 2 heures**.

L'exposition au froid est contraindiquée à cause de l'altération irréversible des fonctions plaquettaires et de l'activation des facteurs VII et X qui s'en suit, hormis dans le cas de l'exploration de la fibrinolyse où la chaîne du froid doit, au contraire, être préférablement respectée. Dans l'éventualité où les tests doivent être différés, le plasma peut être congelé dans les plus brefs délais à une température de -70 °C, par fraction de 300-500µl, dans des tubes en plastiques bouchés hermétiquement. Au moment de l'emploi la décongélation se fait à 37 °C pendant 5 minutes. Ces conditions sont nécessaires à la conservation des activités biologiques de certains facteurs.

4.2 Phase analytique

4.2.1 Tests d'exploration de l'hémostase primaire

✓ Numération plaquettaire (test de routine)

La numération plaquettaire est réalisée par des analyseurs électroniques (Coulter), dont certains fournissent en plus le volume plaquettaire moyen ainsi que l'histogramme de répartition de la taille des plaquettes. Dans le cas d'une thrombopénie détectée par compteur électronique et en l'absence de résultats antérieurs concordant, il est nécessaire de confirmer

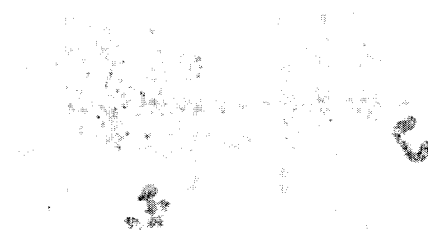


Figure 16 : Observation sur frottis sanguin d'artéfacts faussant la numération plaquettaire automatisée.

l'inexistence d'artéfacts liés à l'EDTA ou à des agglutinines froides dépendantes de l'EDTA. L'observation sur frottis des plaquettes ainsi que sur cellule Malassez et l'étude de la courbe de leur répartition permettent alors d'objectiver les agglutinats. Par ailleurs, il est nécessaire de noter toute macrocytose plaquettaire, étant donné qu'elle peut être associée à des thrombopathies, surtout dans un contexte de thrombopénie modérée. Il faut observer les plaquettes sur frottis, noter leur aspect et les recompter en cellule Malassez, pour corriger le problème posé par l'automate qui peut comptabiliser les plaquettes géantes parmi les leucocytes, ou surestimer le VPM en présence d'agglutinas plaquettaires.

Le chiffre plaquettaire normal est compris entre **150-400 GL** et le VPM entre **7 et 11 fl.**

✓ Temps de saignement (test de routine)

Le temps de saignement est une technique qui permet d'apprécier de manière globale l'hémostase primaire *in vivo*. Il correspond au temps nécessaire pour l'arrêt du saignement à partir d'une plaie cutanée superficielle réalisée à cet effet. La technique de Duke au lobe de l'oreille a été abandonnée à cause de son manque de sensibilité. Une première standardisation a été faite par Ivy : Ivy trois points, puis une variante : Ivy incision a été proposée : elle constitue la méthode de référence actuellement car elle est sensible et reproductible.

La technique de « Ivy incision » fait appel à la pratique d'une incision sur la face antérieure de l'avant-bras. Il consiste au maintien d'une pression constante de 40 mmHg au niveau du bras. Après incision, l'écoulement sanguin est absorbé par un papier buvard toutes les trente secondes, sans toucher la plaie. Le TS exprimé en minutes est défini par le temps nécessaire à l'arrêt de l'hémorragie. Sa pratique est fortement déconseillée si la numération plaquettaire est inférieure à 30 g/l. Un TS normal n'exclut pas une hémorragie en situation chirurgicale, pas plus qu'un TS allongé ne le prévoit. En fait, le TS se révèle moins performant qu'un interrogatoire détaillé dans la prédiction d'un risque hémorragique.¹

La valeur normale du temps de saignement pour la technique d'Ivy est de **8 minutes**.

¹ La « US Food and Drug Administration » ne prend depuis plus en considération le temps de saignement pour l'évaluation des médicaments à visée hémostatique, et ne considère plus ce test lors du dépistage préopératoire à la recherche de pathologies de l'hémostase. Le TS peut donc être considéré comme peu utile. Cependant, dans un contexte peu informatif, un TS allongé peut constituer un argument en faveur d'une thrombopathie ou d'une maladie de Willebrand, sachant qu'un TS normal n'exclut ni l'un, ni l'autre.

✓ Le temps d'occlusion plaquettaire (TOP) (test spécialisé)

Ce test a pour but de reproduire le temps de saignement *in vitro*, il est réalisé par un automate nommé PFA-100. Le TOP est sensible aux paramètres et facteurs intervenants dans l'hémostase primaire, hormis la composante vasculaire. D'un point de vue technique l'échantillon est aspiré à travers un capillaire qui débouche sur une membrane recouverte de collagène ainsi que d'un activateur plaquettaire : l'épinéphrine ou l'ADP. Il existe donc deux TOP en fonction de l'agoniste utilisé : CEPI (collagène/épinéphrine) et CADP (collagène/ADP). La membrane est pourvue d'un orifice et le sang ainsi aspiré est soumis à des taux de cisaillement élevés. L'ensemble propose donc de reproduire *in vitro* le comportement du sang dans un vaisseau de petit diamètre lésé, la membrane faisant office de matrice extracellulaire. Dans ces conditions rhéologiques, l'occlusion de l'orifice dépend de deux paramètres : les plaquettes et le facteur Willebrand.

Le TOP/CEPI peut être considéré normal entre **80 et 160 secondes** et le TOP/CADP, entre **60 et 120 secondes**.

✓ Exploration fonctionnelle plaquettaire

○ Méthode agrégométrique (méthode spécialisée)

Cette technique photométrique consiste à mesurer la variation d'absorbance induite dans un plasma riche en plaquettes après addition d'un faible volume de différents inducteurs de l'agrégation plaquettaire (ADP, collagène, acide arachidonique, adrénaline, thrombine, ristocétine). Les réactions se déroulent à 37 °C sous agitation continue. L'agrégation des plaquettes se traduit par une clarification du milieu, enregistrée par le photomètre sous forme de courbes.

○ La cytométrie en flux (méthode spécialisée)

Le principe de la cytométrie en flux est d'analyser une population de cellules sélectionnée (sur un critère tel que la taille généralement) grâce à un marquage préalable par un anticorps monoclonal, couplé à un fluorochrome.

L'analyse plaquettaire par cytométrie en flux permet notamment de:

- détecter des plaquettes activées *in vivo* grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiques d'antigènes d'activation plaquettaire (P-sélectine, complexe GP IIb-IIIa activé ou fibrinogène fixé à ce complexe)
 - diagnostiquer les thrombopathies constitutionnelles par quantification des glycoprotéines de la membrane plaquettaire : GPIIb-IIIa (déficiente dans la maladie de Glanzmann), GP Ib-IX (diminuée dans la maladie de Bernard-Soulier).
 - mettre en évidence une hyporéactivité plaquettaire par analyse quantitative des variations dans l'expression membranaire de différentes glycoprotéines après stimulation des plaquettes *in vitro* par de l'ADP, du TXA2, ou de la thrombine,
 - de suivre le traitement antiplaquettaire par anticorps anti GP IIb-IIIa ou autres antiplaquettaires.
- ✓ Exploration de l'endothélium (méthode spécialisée)

Bien que l'endothélium joue un rôle important dans l'hémostase, son exploration est à ce jour très difficile et peu pratiquée: en plus du problème de l'accessibilité, l'endothélium présente une grande hétérogénéité immunologique et fonctionnelle. Par conséquent, nous ne connaissons pas de marqueurs spécifiques. Les rares tests effectués manquent de spécificité et leur pertinence clinique reste à prouver. Ces tests proposent trois approches différentes :

- le dosage de substances solubles d'origine endothéliale concerne le VWF, la TM, l'activateur du plasminogène (t-PA) et son inhibiteur (PAI-1). Ces marqueurs permettent une estimation globale de l'activation des cellules endothéliales.
- les techniques immunohistochimiques utilisant des anticorps dirigés contre des antigènes de surface de la cellule endothéliale conduisent à des résultats plus précis mais sont inutilisables en pratique clinique du fait de leur caractère invasif
- la détection des cellules endothéliales circulantes qui proviennent du détachement de celles-ci lors de certaines lésions vasculaires semble être un test prometteur. Celles-ci sont détectées par immunocapture en utilisant un anticorps monoclonal dirigé contre une protéine de la

membrane endothéliale (CD146) et sont souvent associées à des pathologies thrombotiques, infectieuses ou immunologiques.

✓ Le facteur de willebrand

L'analyse du facteur Willebrand plasmatique peut être réalisée selon deux types de méthodes : les méthodes quantitatives et les méthodes fonctionnelles. Leurs principes, indications et l'interprétation des résultats sont expliquées dans le chapitre qui suit (*Voir La maladie de Von Willebrand page 85.*)

On admet des taux de FvW variant de 50 à 200%.

Différents facteurs physiologiques influencent le taux de FvW : le taux de FvW est de 25 à 35% inférieur chez les **sujets de groupe sanguin O** en comparaison avec les sujets non O, il est plus élevé d'environ 15% chez les individus de race noire et notons enfin qu'il augmente avec l'âge d'environ 10%. Par ailleurs, d'autres paramètres sont susceptibles d'augmenter les taux de VWF tels que : le stress et l'exercice physique, les ostroprogestatifs, la grossesse, les états inflammatoires ...

4.2.2 Tests d'exploration de l'hémostase secondaire

✓ Temps de Quick (TQ) ou taux de prothrombine (TP) (test de routine)

Le temps de Quick est le temps de coagulation d'un plasma sanguin citraté, déplaqué et recalcifié en présence de thromboplastine calcique (contenant du facteur tissulaire et des phospholipides en large excès). Ce temps est exprimé en secondes par rapport au temps obtenu pour un plasma témoin servant de référence. **Il explore la voie extrinsèque et la voie commune de la coagulation, à savoir les facteurs : FVII, FII, F, FX, FI.**

Le résultat est exprimé soit en secondes par rapport à un témoin temps de Quick (TQ), soit en pourcentage d'activité : taux de prothrombine (TP) par rapport à la courbe de thivolle, établie à partir d'un plasma témoin dilué au 1/2, 1/3, 1/4, 1/5.

Le temps du témoin est généralement compris entre **12 et 14 secondes**. Le TQ est considéré comme allongé si un écart de 2 secondes ou plus est observé par rapport au témoin.

Un temps de 12 secondes correspond à un taux de prothrombine de 100%.

Valeur normale du TP : 70 à 100% (voir droite de Thivolle représentée ci-dessous).

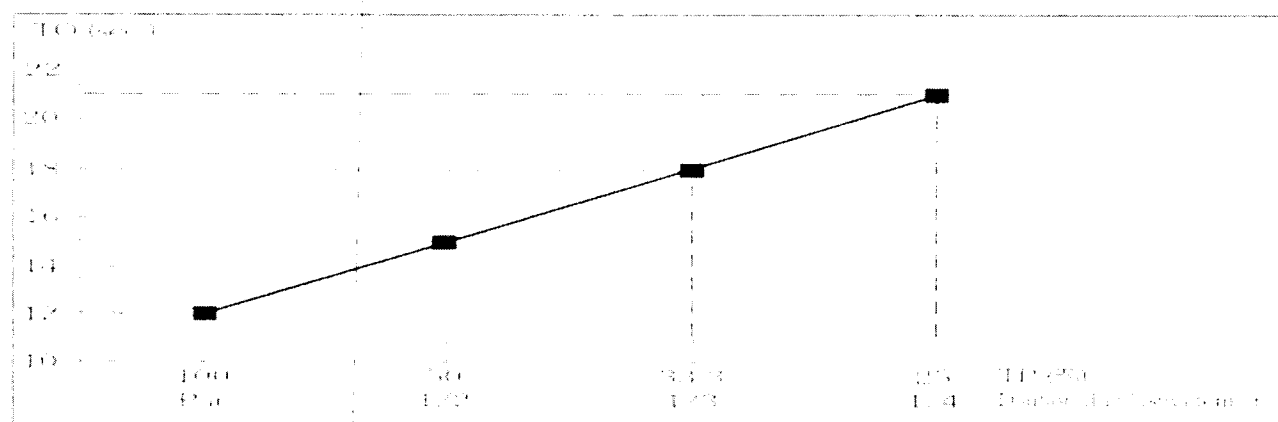


Figure 17 : Schéma représentant la courbe de Thivolle

Or, des variations importantes des résultats de TP rendus en % sont observées d'un laboratoire à un autre et d'un réactif à un autre, pour les patients traités par antivitamines K (AVK).¹ C'est pourquoi l'expression du TQ en INR (International Normalized Ratio) a été proposée dès 1983 pour la surveillance du traitement anticoagulant oral. (voir annexe)

L'utilisation de l'INR a donc facilité le contrôle des patients suivant une échelle standardisée. L'ISI (International Sensitivity Index) est un indice spécifique du réactif thromboplastine utilisé.

$$\text{INR} = \left[\frac{\text{Temps de Quick du malade (sec)}}{\text{Temps témoins (sec)}} \right]^{\text{ISI}}$$

¹ L'INR mesure, sous certaines conditions, le temps de coagulation d'un patient et le compare à celui d'un sujet qui ne reçoit pas d'AVK. Chez un sujet non traité, l'INR est égal à 1. Chez un patient traité par un AVK, plus le temps de coagulation s'allonge et plus l'INR augmente. L'INR " cible " est la valeur d'INR à rechercher pour obtenir un traitement efficace. L'INR " cible " dépend de la maladie pour laquelle le traitement est prescrit. Dans la plupart des cas, il doit se situer entre 2 et 3 : un INR inférieur à 2 reflète une dose insuffisante, un INR supérieur à 3 correspond à une dose trop forte, avec un risque potentiel d'hémorragie. Dans certains cas, l'INR cible doit être plus élevé, compris entre 3 et 4,5, pour que le traitement soit efficace. Dans tous les cas, un INR supérieur à 5 est associé à un risque hémorragique accru. (Afssaps, 2009)

✓ Temps de céphaline + activateur (TCA) (test de routine)

C'est un test global qui explore la voie intrinsèque et ceux de la voie commune de la coagulation : FVIII, FIX, FXI, FXII, PK, KHPM, FII, FV, FX, FI. Il est automatisable, simple et peu coûteux.

C'est le temps de coagulation d'un plasma déplaqueté recalcifié en présence de phospholipides et d'un activateur du système contact de la coagulation. La céphaline fait office de réactif phospholipidique, l'activateur peut être particulaire (kaolin, silice) ou soluble (acide ellagique).

Il est exprimé en secondes par rapport à un témoin. Le résultat est normal pour toute valeur inférieure à 1,2 fois le temps en seconde du témoin. Il est important de noter que la valeur du témoin n'est pas constante et varie d'un laboratoire à l'autre.

La valeur du TCA normal est comprise entre 25s et 35s .
--

✓ Temps de thrombine TT (test de routine)

Le temps de thrombine (TT) est un test global d'exploration de la **fibrinoformation**. C'est un temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes (PPP) à 37°C, en présence de thrombine. Il explore les deux premières étapes de la fibrinoformation : action protéolytique de la thrombine et polymérisation, mais est indépendant du facteur XIII (facteur de stabilisation de la fibrine). La formation du caillot est détectée par des méthodes chronométriques, électromécaniques ou optiques. Une épreuve de correction par addition de plasma témoin peut être réalisée : l'absence de correction du TT signe la présence d'un inhibiteur de la coagulation dans le prélèvement (héparine, anticoagulant lupique, etc.).

Les résultats sont exprimés en secondes par rapport au témoin. Le temps de thrombine dépend du fibrinogène. Il est allongé lorsque celui-ci est inférieur à 1 g/l ou supérieur à 6 g/l. Dans cette dernière éventualité, la dilution du plasma dans du sérum physiologique peut corriger l'anomalie. Il est également fonction de la présence d'un inhibiteur de la thrombine (anticoagulant circulant, produits de dégradation du fibrinogène-fibrine [PDF] à taux très élevés) et notamment de l'héparine ou de l'hirudine. Le TT est la première étape de l'exploration d'un allongement du TCA, pour éliminer les allongements liés à la présence

d'héparines. Enfin, il est allongé en présence d'une anomalie qualitative du fibrinogène (dysfibrinogénémie).

Les valeurs normales du temps de thrombine sont comprises entre 16 et 20 secondes.

La reptilase transforme le fibrinogène en fibrine. Elle est insensible à l'héparine, aux héparinoïdes et à l'hirudine. Le temps de reptilase explore donc la fibrinoformation chez les patients traités par l'héparine. L'allongement du temps de reptilase traduit une anomalie de la fibrinoformation.

Les valeurs du temps de reptilase normales sont comprises entre **18 et 22 secondes**.

✓ Tests biologiques explorant spécifiquement les facteurs de la coagulation

Devant des anormalités des tests globaux de la coagulation on doit effectuer le dosage spécifique d'un ou de plusieurs facteurs pour la recherche d'un déficit acquis ou constitutionnel.

-Analyse fonctionnelle : Le principe de l'analyse fonctionnelle repose sur la capacité du plasma du malade à corriger le temps de coagulation d'un plasma complètement dépourvu en un facteur de la coagulation spécifique à doser. Elle consiste donc en la mesure du temps de coagulation (**méthode chronométrique**) d'un mélange à volume égal du plasma du malade dilué au $1/10^{\text{ème}}$ et du plasma réactif déficitaire en facteur de la voie de contact. Le temps mesuré est transformé en pourcentage d'activité (ou en UI) par rapport aux valeurs normales en se référant à une gamme d'étalonnage établie à partir d'un plasma témoin ayant 100% d'activité. (*Voir les valeurs normales de l'activité des facteurs de la coagulation dans l'**annexe 02***)

-Dosage quantitatif par **méthode immunologique** en laboratoire spécialisé afin de différencier un déficit quantitatif d'un déficit qualitatif.

-Etude du gène en **biologie moléculaire** à la recherche de la mutation responsable du déficit constitutionnel dans les laboratoires spécialisés. (*Voir les mutations décrites pour ce déficit dans « Les déficits en facteurs de la coagulation » page 92.*)

- Dosage du fibrinogène

Analyse quantitative : Dosage pondéral après action d'une solution de thrombine calcique qui transforme le Fg en un caillot de fibrine.

Analyse qualitative (test fonctionnel) : L'appréciation fonctionnelle du fibrinogène est effectuée selon la technique chronométrique de **Von Clauss**.

Son principe repose sur l'étude du temps d'apparition du caillot de fibrine dans une dilution du plasma au 1/10 ème. Ce temps est ensuite transformé en g/l grâce à une droite d'étalonnage effectuée à partir d'un plasma témoin dont la concentration en Fg est connue en présence d'un excès de thrombine.

Cette technique est très sensible pour la détection d'un fibrinogène fonctionnellement anormal (dysfibrinogénémie) ou d'anomalies de polymérisation.

Le taux de Fg augmente en cas d'inflammation et de cancer.

Le taux plasmatique normal est de **2 à 4 g/l**.

- Dosage du facteur stabilisant de fibrine

Le dosage se fait par :

- méthode quantitative chromogénique par étude de la fonction transglutaminase.
- méthode fonctionnelle par étude de la stabilité du caillot dans une solution d'urée 5M ou d'acide monochloroacétique.
- dosage de l'antigène par méthode ELISA.
- étude du gène par biologie moléculaire.

Le taux d'activité du FXIII est de 50 à 140%.

- ✓ Tests biologiques explorant les principaux régulateurs de la coagulation (tests spécialisés)

- L'antithrombine

Analyse qualitative de l'AT (tests fonctionnels) : ce test permet d'apprécier l'activité de l'antithrombine. Le plasma du patient est incubé en présence d'héparine et un excès de thrombine (ou de FXa). L'excès de thrombine ou de (FXa) qui n'est pas neutralisé par l'AT présente dans le plasma du patient est inversement proportionnel à l'activité de l'AT. Cet excès est dosé par un automate utilisant un mode de détection chromogénique. Pour palier à

l'interférence de l'HCII, il est courant d'utiliser de la thrombine bovine qui n'interagit pas avec l'HCII.

Analyse quantitative de l'AT: dosage de l'antigène « antithrombine » par méthode immunoenzymatique ELISA ou par immunoprécipitation.

Les valeurs normales de l'AT dans le plasma varient entre 112 à 140 ug/ml. A cause des variations qui existent entre un laboratoire et un autre, le niveau d'activité et la concentration de l'AT sont exprimé en %. Les valeurs normales oscillent entre 80-120%. Il faut savoir que 100% d'AT correspond à une unité de AT dans 1ml de plasma référence.

- La protéine C

Trois types de mesures sont utilisés : la mesure de l'activité par test de coagulation ou évaluation du site catalytique (méthode amidolytique) et le dosage immunologique (ELISA).

L'appréciation de l'activité anticoagulante de la protéine C se fait comme suit : la protéine C contenue dans le plasma du malade est d'abord activée par un venin de serpent puis la mesure de son activité se fait par méthode chronométrique par évaluation de l'allongement du TCA du à la dégradation des FV et FVIII par la PCa. Toutefois, plusieurs interférences existent pour cette méthode, notamment le déficit en facteur VIII.

La méthode amidolytique consiste à apprécier l'activité de la PC du malade activée préalablement sur un substrat chromogène. L'intensité de la coloration est proportionnelle au clivage du substrat et donc à l'activité de la PCa.

- La protéine S

Physiologiquement, approximativement 60% de la protéine S totale dans le plasma est complexée à un composé du complément, le C4b. Seulement 40% est fonctionnellement active comme cofacteur de la protéine C. Cette observation a conduit au développement de méthodes pour la mesure de la protéine S antigène S totale, et de la protéine S libre. La protéine S totale peut être mesurée par ELISA après dilution des échantillons plasmatiques permettant la dissociation de la liaison C4b-protéine S. La quantification de la fraction libre se fait par méthode immunologiques après précipitation des complexes protéines S-C4b par

polyéthylène glycol. Il est aussi possible de quantifier la fraction libre par méthode immunologique utilisant des anticorps dirigés spécifiquement contre la forme libre.

4.2.3 Tests d'exploration de la fibrinolyse

- Dosage du t-PA, alpha2 antiplasmine, plasminogène, PAI1: ils sont très rarement pratiqués et réservés aux laboratoires spécialisés.
- Les produits de dégradation de la fibrine (PDF)

Mesurés par technique d'agglutination de particules de latex sur lesquelles sont fixées des anticorps reconnaissant les antigènes de ces fragments. Une agglutination faible traduit une concentration de PDF inférieure à 10ug/ml tandis qu'en CIVD avec fibrinolyse secondaire, on observe une agglutination forte à des taux de PDF supérieures à 10 à 40 Ug/ml.

- D-dimères

De nombreuses techniques de dosage sont actuellement disponibles sur le marché. Les techniques les plus anciennes sont des techniques d'agglutination de particules de latex sensibilisés non adaptées à l'exclusion de La TVP. Les techniques plus récentes, automatisées : ELISA, « latex quantitatif » qui sont adaptées à l'exclusion de la TVP. Le principe de ces méthodes repose sur l'utilisation d'un anticorps monoclonal dirigé contre les liaisons qui lient les D-dimères entre eux. Malgré un manque de standardisation, un certain nombre de méthode valide comme **valeurs de références les résultats inférieurs à 500 ng/ml**. Les principaux intérêts du dosage des D-dimères sont le diagnostic et le suivi des patients atteints de CIVD, la fibrinolyse primitive et les accidents thromboemboliques. Une concentration plasmatique de D-dimères inférieure à 500ng/l permet d'exclure un processus thrombotique (TVP, EP).

- Les complexes solubles

L'indication de l'analyse qualitative des complexes solubles est un contexte où l'on suspecte une CIVD. Il existe différentes méthodes de dosage dont le test à l'éthanol qui repose sur le principe de dissociation des complexes solubles. La technique d'hémagglutination utilise des hématies sensibilisées par des monomères de fibrine. Les résultats sont exprimés

qualitativement : présence ou absence de complexes solubles. Ils sont faussement négatifs lors de baisse de Fg inférieure à 0.5g/l et ils sont faussement positifs lors d'hyperfibrinogénémie (inflammation ...)

- Test de lyse des euglobulines

Le principe repose sur la précipitation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes par l'acide acétique, le précipité est alors coagulé par la thrombine et le temps nécessaire à la dissolution du caillot est mesuré. Il est normalement compris entre 60 et 300 minutes. Son raccourcissement témoigne une activation du système fibrinolytique.

CHAPITRE 02

TROUBLES DE L'HEMOSTASE

CHAPITRE II : TROUBLES DE L'HEMOSTASE

Une anomalie au niveau de l'hémostase physiologique aura pour cause un déplacement de son équilibre vers un état d'hypocoagulabilité entraînant une symptomatologie hémorragique ou vers un état d'hypercoagulabilité entraînant une symptomatologie thrombotique.

I- Les états hémorragiques

1. Les anomalies de l'hémostase primaire

Les anomalies de l'hémostase primaire regroupent tous les troubles de la coagulation qui ont pour origine une anomalie congénitale ou secondaire d'un ou de plusieurs des éléments intervenants dans l'hémostase primaire, qui sont : la paroi vasculaire, les plaquettes, ainsi que les éléments plasmatiques, à savoir le fibrinogène et le facteur de Willebrand. Cependant, cette classification physiopathologique simplifiée doit considérer que : dans la pratique une atteinte simultanée de plusieurs composants dans un organisme malade, peut survenir à divers degrés.

1.1 Les anomalies de l'hémostase primaire d'origine vasculaire

Toute anomalie de l'endothélium vasculaire, qu'elle soit primitive ou secondaire, peut engendrer un saignement anormal alors que le processus de l'hémostase est normal.

Les purpuras par atteinte vasculaire sont constatés de façon courante en pratique clinique, le plus souvent chez les patients de sexe féminin. La symptomatologie est modérée et se caractérise par des ecchymoses et une tendance aux saignements spontanés. Dans ce genre d'affection la numération plaquettaire est toujours normale et le temps de saignement est lui aussi normal ou prolongé.

Les anomalies de l'hémostase d'origine vasculaire peuvent être secondaires à une atteinte de la structure des vaisseaux et des macromolécules sous-endothéliales, des modifications des parois vasculaires d'origine inflammatoires ou des modifications d'origine immunologiques. De ces modifications, découlent : une augmentation de la perméabilité vasculaire, une diminution de la résistance des parois ou une anomalie de la contraction vasculaire suite aux lésions.

1.1.1 Les affections primitives

➤ Le purpura simplex

Ce syndrome hémorragique extrêmement minime se rencontre le plus souvent chez la femme. Les symptômes observés sont des ecchymoses spontanées au niveau des bras, des cuisses et des fesses.

➤ Le purpura sénile

C'est une maladie du vieillard, elle concerne 10% de la population âgée entre 70 et 90 ans, avec une prédominance chez les femmes. Elle se caractérise par l'apparition de taches purpuriques lie-de-vin sur les faces externes des avants bras et des mains. Histologiquement, le purpura sénile est caractérisé par l'issue de globules rouges hors des vaisseaux.

➤ La maladie de Rendu-Osler ou télangiectasie hémorragique héréditaire

C'est la plus fréquente des maladies vasculaires héréditaires. Elle se transmet selon le mode autosomique dominant et se manifeste par des hémorragies cutanées et muqueuses. La lésion représente une dilatation des veinules post-capillaire puis une fistule artério-veineuse directe. Ces lésions sont fréquentes au niveau des muqueuses nasales, buccales, des voies digestives et des voies respiratoires. Les pertes sanguines causent une anémie chronique hypochrome ferriprive.

➤ Hémangiome caverneux géant ou syndrome de Kasabach-Merritt

C'est une forme très rare de l'hémostase primaire. L'anomalie hémorragique est liée à une interaction importante entre les plaquettes et la surface de la paroi vasculaire anormale, entraînant un syndrome de consommation plaquettaire avec formation de micro-thromboses et une coagulation intra-vasculaire localisée. Il existe souvent une anémie hémolytique avec micro-angiopathie et présence de schizocytes.

Le traitement de choix est l'exérèse chirurgicale lorsque celle-ci est possible. Le traitement pharmacologique est particulièrement empirique et ses résultats varient d'un patient à l'autre. Actuellement, les quatre traitements efficaces sont la corticothérapie générale, l'interféron alpha 2a ou 2b, la vincristine, et une association de ticlopidine et d'aspirine. Le syndrome de Kasabach-Merritt est caractérisé par une thrombopénie majeure et d'une coagulopathie de

consommation plus ou moins marquée avec : fibrinogène bas, présence de complexes solubles à des taux élevés et D-dimères très élevés le plus souvent.

➤ Les maladies du tissu conjonctif

Ces maladies héréditaires des macromolécules conjonctives sont nombreuses et complexes sur le plan moléculaire et génétique. Elles sont caractérisées par des anomalies du collagène de type I, III et IV et de l'élastine. Ce qui résulte de la diminution de la force tensile du collagène dont découle une fragilité des vaisseaux, des ectasies vasculaires et des anomalies valvulaires cardiaques. Les signes cliniques principaux sont l'atteinte cutanée avec peau hyper-élastique, les déformations osseuses et articulaires avec hyper-mobilité. Au cours de ces maladies, des anomalies de l'hémostase primaire ont souvent lieu. Elles se manifestent par des purpuras et des ecchymoses cutanées et muqueuses résultant d'une anomalie d'interaction entre les plaquettes et le sous-endothélium. De telles anomalies de l'hémostase primaire ont été rapportées au cours des syndromes d'Ehlers-Danlos, du syndrome de Marfan, du pseudo-xanthome élastique et de l'ostéogénèse imparfaite.

1.1.2 Les affections secondaires

➤ Les purpuras associés aux infections

Au cours des infections généralisées, il est fréquent de rencontrer des purpuras qui sont dus à des lésions de l'endothélium par les endotoxines des bactéries à gram négatif ainsi qu'à des micro-thromboses parfois septiques.

➤ Purpura rhumatoïde ou maladie de maladie de Schonlein-Henoch

Le purpura rhumatoïde (PR) est une vascularite systémique des petits vaisseaux, beaucoup plus fréquent chez l'enfant que chez l'adulte (150 à 200 pour 1). Le PR est caractérisé par l'association d'un purpura vasculaire cutané à des signes articulaires et gastro-intestinaux. Une glomérulonéphrite à dépôts mésangiaux d'IgA s'associe parfois à ces signes. Plus rarement, des localisations neurologiques, pulmonaires, cardiaques ou urogénitales peuvent être observées. A ce jour, le mécanisme physiopathologique est encore incompris. L'hypothèse la plus souvent avancée est celle d'une réponse anormale d'un système immunitaire immature à une agression antigénique externe. Il est observé une augmentation du taux sérique d'IgA dans 60% des cas, avec déséquilibre en faveur des sous-classes IgA1,

circulation de complexes immuns composés d'IgA, anomalies de la glycosylation des IgA et augmentation du nombre de lymphocytes B circulants porteurs d'IgA membranaires et capables in vitro de produire un excès d'IgA.

Souvent, la maladie est précédée d'une infection de la sphère ORL ou respiratoire ou d'une prise médicamenteuse, toxique ou alimentaire, en particulier chez l'enfant.

➤ Purpuras métaboliques

Il est fréquent de rencontrer une atteinte de l'hémostase primaire d'origine vasculaire au cours de troubles métaboliques. Le diabète par exemple entraîne une fragilité vasculaire. Lors du scorbut, la carence en vitamine C cause directement une anomalie de la polymérisation du collagène causant une fragilité de la paroi vasculaire et une anomalie de l'hémostase primaire. L'administration prolongée des corticostéroïdes et le syndrome de Cushing s'accompagnent fréquemment de lésions purpuriques cutanées diffuses dues à une inhibition de la synthèse du collagène.

➤ Les dysprotéinémies

Les pathologies telles que les hyperglobulinémies, les cryoglobulinémies, le myélome multiple et Kahler et la maladie De Waldenstrom, sont souvent accompagnées d'hémorragies cutanéomuqueuses, dues, isolément ou en association, à des thrombopénies, des thrombopathies, une anomalie de la fibrinolyse et des protéines de la coagulation ainsi que la présence d'anticoagulants circulants.

Souvent, la macromolécule anormale interfère directement avec la polymérisation des monomères de fibrine et recouvre la surface des plaquettes et du vaisseau pour inhiber leur interaction. La correction de l'hémostase se fait en réduisant la concentration de la protéine anormale par plasmaphérèse.

➤ Purpuras médicamenteux

Il est possible qu'une prise de médicament entraîne un trouble de l'hémostase primaire par lésion vasculaire, soit par production d'anticorps contre le vaisseau, la formation de complexe immun circulant ou une augmentation de la perméabilité vasculaire.

1.2 Les anomalies plaquettaires

Le déroulement normal du processus d'hémostase requiert la présence dans le sang de plaquettes fonctionnelles et en nombre suffisant.

1.2.1 Les thrombopénies

Il n'y a pas de parallélisme strict entre la baisse du taux de plaquettes et le risque hémorragique qui dépend également du caractère central ou périphérique de la thrombopénie et du contexte pathologique. Une thrombopénie peut avoir plusieurs origines :

- Thrombopénie centrale par un défaut de production des plaquettes.
- Thrombopénie périphérique par anomalie de répartition dans l'organisme ou destruction excessive des plaquettes.

a) Thrombopénie centrale par défaut de production

La production des plaquettes dans la moelle osseuse est anormale soit parce que la mégacaryocytopoïèse est diminuée ou inefficace.

L'anomalie de la production des plaquettes peut être constitutionnelle ou acquise.

Les thrombopénies **constitutionnelles** regroupent :

- La thrombopénie avec aplasie radiale ou syndrome TAR

La plupart des cas présentant cette maladie ont été transmis sur le mode autosomique récessif. Il s'agit d'une maladie très rare, caractérisée par une thrombopénie avec hypomégacaryocytose, aplasie radiale bilatérale et présence des pouces. L'anomalie génétique en cause n'a pas été encore clairement identifiée (Klopocki, Schulze, Strauss, & al, 2007). La thrombopénie survient à la naissance, et, est souvent sévère (<50 g/L). Un syndrome hémorragique est fréquemment présent à la naissance et durant la première année de vie.

- Amégacaryocytose congénitale

Maladie rare de transmission autosomique récessive se révélant dès la première année de vie et peut évoluer vers l'aplasie médullaire. Il existe un défaut de différenciation des

progénitures mégacaryocytaires en mégacaryocytes matures malgré un taux plasmatique de TPO élevé engendré par des mutations ponctuelles ou par des délétions au niveau du gène c-MPL codant pour son récepteur.

- Thrombopénie familiale liée au chromosome 10

De transmission autosomique dominante, elle ne présente aucune manifestation extra-hématologique. Le syndrome hémorragique est modéré ou absent. Les plaquettes sont morphologiquement normales et les mégacaryocytes sont présents en nombre normal avec des signes de dysmégacaryopoïèse. (Leverger, Petit, Landman-Parker, & Favier, 2009).

- Syndrome MYH9

Regroupe les thrombopénies constitutionnelles de transmission autosomique dominante avec macro-plaquettes associées à des inclusions lamellaires bleutées basophiles au niveau des neutrophiles appelés : **corps de Dôhle** comprenant : le syndrome de May Hegglin, de Fechtner, d'Epstein, de Sebastian et le syndrome Alport-like avec macrothrombocytopenie. La mutation est localisée au niveau du gène MYH9 (Myosine Heavy Chain 9), et, est responsable d'un déficit de la chaîne lourde de la myosine.

La thrombopénie est isolée dans le syndrome de May Hegglin et de Sebastian et associée dans les autres syndromes à des atteintes rénales, oculaires et de surdité apparaissant durant l'enfance ou à l'âge adulte dans le syndrome d'alport.

- Syndrome de Wiscott Aldrich

Le syndrome de Wiskott-Aldrich est une maladie rare qui est transmise selon un mode lié à X. Elle s'exprime par un déficit immunitaire qui se manifeste par des infections à répétition, un eczéma et une thrombopénie microcytaire. Le syndrome hémorragique apparaît dès les premières semaines de vie.

La thrombopénie relève d'un mécanisme central par thrombopoïèse inefficace due à une anomalie de la protéine WASP, codée par le gène WAS et dont le rôle est important dans la polymérisation des filaments d'actine des cellules hématopoïétiques et qui intervient dans la mégacaryopoïèse, en particulier, la formation des proplaquettes. (Sabri, et al., 2006).

- Thrombopénie microcytaire liée à X

- Syndrome de Di-George
- Amégacaryocytose et synostose radio-cubitale
- Macrothrombopénie méditerranéenne
- Thrombopénie Paris-Trousseau
- Le syndrome oculo-oto-radial ou syndrome d'IVIC
- Thrombopénie macrocytaire liée à l'X avec dysérythropoïèse et GATA-1

L'atteinte de la lignée mégacaryocytaire lors d'une insuffisance médullaire acquise se traduit biologiquement par une thrombopénie.

Les thrombopénies associées à une atteinte des autres lignées et en particulier à une anémie, comportent un risque hémorragique plus élevé que les thrombopénies isolées (Megarbane, Drouet, & ElAlamy, 2013).

Les étiologies **acquises** responsables de l'insuffisance médullaire à l'origine de la thrombopénie sont :

-L'envahissement médullaire: l'envahissement de la moelle par un processus malin comme : les hémopathies malignes, lymphome, myélome, métastases médullaires d'un cancer, etc...

-La chimiothérapie : la thrombopénie induite par la chimiothérapie survient chez des patients traités pour un cancer ou une hémopathie maligne. La quasi-totalité des chimiothérapies cytotoxiques peuvent induire une thrombopénie. La chimiothérapie exerce son activité antimitotique sur les progéniteurs lors des phases du développement du mégacaryocyte.

A côté des chimiothérapies myélotoxiques, les nouveaux agents anticancéreux spécifiques de cibles cellulaires sont aussi pourvoyeurs de thrombopénie. ¹

-la radiothérapie

-Les agents hématotoxiques : l'intoxication volontaire ou accidentelle par certains agents hématotoxiques est responsable de thrombopénie non isolée. ¹

¹ Plusieurs cas de thrombopénies ont été attribués, par exemple, au rituximab, anticorps monoclonal chimérique anti-CD20, utilisé dans les hémopathies malignes. De même, le bortezomib, inhibiteur de l'activation du facteur NF-κB, atteint la capacité des mégacaryocytes à générer des plaquettes (Lonial, Waller, Richardson, Jagannath, & al, 2005).

-L'alcoolisme aigu : l'intoxication aiguë par l'alcool par effet direct sur la production médullaire.

-Les médicaments : certains médicaments ont une toxicité directe sur la moelle osseuse telle que les diurétiques thiazidiques.

-Les affections virales

-La carence en vitamine B12 et folates

b) Thrombopénies périphériques par séquestration splénique accrue

Les plaquettes susceptibles de contribuer au processus de l'hémostase sont celles qui circulent librement dans le sang, mais aussi, celles qui résident dans des espaces vasculaires d'où elles peuvent être rapidement mobilisées, en particulier, le sinus splénique. A l'état normal, 30% des plaquettes produites stagnent de manière réversible dans la rate. Cette proportion peut augmenter en cas de splénomégalie. (Hillman & al, 2007). Dans la majorité des cas, l'hypersplénisme isolé n'entraîne pas de thrombopénie profonde ni de syndrome hémorragique.

c) Thrombopénies périphériques par excès de destruction

Les thrombopénies périphériques par excès de destruction à diathèse hémorragique sont d'origine immunologique.

➤ Thrombopénies d'origine immunologique

Les critères et le niveau d'imputabilité des médicaments devant une thrombopénie immunologique isolée sont décrits dans l'annexe 3.³ Les mécanismes des thrombopénies médicamenteuses immunologiques sont distingués comme suit :

- Thrombopénies de type quinine-like : thrombopénie induite par la quinine, la quinidine, la rifampicine, la ranitidine, etc.
- Thrombopénie induite par l'abciximab

¹ Par exemple, l'exposition prolongée au benzène provoque une immunotoxicité et une hématotoxicité, quelle que soit la voie d'absorption. La toxicité du benzène cible particulièrement les organes hématopoïétiques, en particulier la moelle osseuse causant entre autres une thrombopénie (Groupe scientifique sur l'eau, 2003).

³ Référence de l'annexe : (Megarbane, Drouet, & ElAlamy, 2013).

- Anticorps haptène-dépendants : thrombopénie induite par les antibiotiques de type pénicilline ou céphalosporine.
- Formation d'auto-anticorps : thrombopénie induite par la procainamide, la pénicillamine, le sulfaméthoxazol, la L-dopa et surtout les sels d'or.

Il est fréquent d'observer une thrombopénie au cours d'un contexte auto-immun. Plusieurs affections peuvent engendrer une thrombopénie par ce mécanisme notamment les maladies autoimmunes (LED, sarcoidose ...), certaines infections virales et parasitaires (VIH, rougeole rubéole, hépatite virale, CMV, varicelle, histoplasmosis etc ...).

La transfusion d'un produit sanguin contenant des fractions solubles d'un antigène plaquettaire peut causer une immunisation du receveur ayant des plaquettes négatives pour cet antigène.

Le **purpura thrombopénique idiopathique** (PTI) autoimmun est un diagnostic d'exclusion porté après avoir écarté les étiologies immunologiques (contexte de maladie auto-immune, médicaments, etc ..) et non immunologique d'une thrombopénie.

Une thrombopénie néonatale peut résulter du passage transplacentaire d'anticorps d'origine maternelle résultant soit d'une **allo-immunisation** en cours de grossesse, soit d'un processus **auto-immun** maternel. Le mécanisme d'alloimmunisation plaquettaire foetomaternelle résulte d'une incompatibilité dans un des systèmes antigéniques spécifiques des plaquettes (exemple : le système HPA-1). Les nouveaux nés d'une mère atteinte d'un purpura thrombopénique auto-immun ont également un risque de thrombopénie néonatale par passage transplacentaire des auto-anticorps maternels antiplaquettaires de type IgG. Il existe des formes de thrombopénies de nouveaux nés de mères ayant récemment subi une splénectomie, ou certaines infections virales ou ayant pris certains médicaments pendant la grossesse. (Hillman & al, 2007)

1.2.2 les thrombopathies

Toute altération de la fonction plaquettaire est susceptible d'induire un trouble dans l'une des phases de l'hémostase.

1.2.2.1 Les thrombopathies héréditaires

a) Les troubles de l'adhésion plaquettaire

➤ La maladie de Bernard Soulier

Maladie autosomique récessive, caractérisée par un déficit ou un défaut fonctionnel du complexe membranaire GP Ib-IX-V qui aboutit à un défaut de liaison du FvW et un trouble d'adhésion au sous endothélium. A ce jour, 47 mutations différentes à l'origine de la maladie ont été identifiées impliquant soit : le gène du GPIb α , le gène du GPIb β , ou le gène du GPIX. Le complexe est absent dans la majorité des cas, exceptionnellement, 7% à 47% de GPIb ou GPIb-IX résiduels sont détectés. Les symptômes sont observés dès le plus jeune âge et sont caractéristiques d'une anomalie plaquettaire: ecchymoses, épistaxis, gingivorragie. Plus tard, sont observées : des ménorragies, hémorragies postpartum, gastro-intestinales et post-traumatiques. Les hémarthroses sont peu fréquentes.

La maladie de Bernard Soulier est caractérisée par :

- Une macroplaquettose (chez la majorité des cas). 30% à 80% des plaquettes au diamètre supérieur à 3,5 μ m. Occasionnellement, des plaquettes au diamètre allant de 10 à 30 μ m sont détectées au frottis sanguin.
- Un TS supérieur à 20 minutes.
- Une thrombopénie (chez la majorité des cas).
- Un TP diminué.

Contrairement aux cas de maladie de Willebrand, l'agrégation n'est pas corrigée par l'ajout de plasma normal. **La ristocitrine ne provoque pas d'agrégation plaquettaire.** L'agrégation induite par l'ADP, le collagène et l'épinéphrine est normale en intensité, mais pas dans sa cinétique. Le traitement se fait généralement par transfusion plaquettaire. Récemment, des patients ont été guéris par greffe de moelle osseuse.

➤ Déficit ou anomalie du GPVI et GPIa-IIa

Le déficit peut être congénital ou acquis par des auto-anticorps anti GPVI interférant avec les fonctions normales de ce récepteur. Les symptômes sont variables en gravité d'un patient à l'autre.

Le déficit en GPIa-IIa (l'intégrine $\alpha_2\beta_1$) peut être quantitativement variable d'un patient à l'autre et se caractérise par une **adhésion par le collagène faible ou inexistant**.

➤ La pseudo-maladie de Willebrand

De transmission autosomique dominante, l'anomalie est causée par une mutation au niveau de la zone de fixation du facteur Willebrand sur la sous unité GPIb plaquettaire. Deux mutations dans le gène codant le vWF ont été identifiées (Gly233Val ou Met239Val). Le GPIb α fixe spontanément les multimères de facteur de Willebrand plasmatique, ce qui entraîne leur agglutination. C'est une maladie caractérisée par une prolongation du temps de saignement, une thrombopénie intermittente, des plaquettes de morphologie normale et une diminution des multimères de haut poids moléculaire du facteur de Willebrand dans le plasma d'où la symptomatologie hémorragique par défaut d'adhésion de plaquettes au sous endothélium. Le diagnostic est confirmé par l'étude de la liaison du vWF aux plaquettes en présence de ristocétine.

b) Les troubles de l'activation plaquettaire

➤ Les thrombopathies par anomalie du récepteur à l'ADP

C'est une anomalie rare. Le syndrome hémorragique qui en résulte est modéré.

Le temps de saignement est prolongé, l'agrégation à l'ADP est diminuée à absente.

L'étude des plaquettes à l'aide de ligand spécifique de l'ADP montre une réduction du nombre des récepteurs de l'ADP. L'anomalie porte sur le récepteur « P2cyc » couplé à l'adénylate cyclase. Le récepteur P2Y1 d'initiation de l'agrégation à l'ADP est normal.

➤ Déficit en cyclooxygénase

Le tracé de l'agrégation plaquettaire chez les ces patients ressemble à ceux de la maladie du pool vide et s'en distinguent par l'absence de l'agrégation à l'acide arachidonique.

L'agrégation par les prostaglandines endopéroxydes PGG₂ et PGH₂ est normale, de même que le contenu en ATP, ADP et sérotonine des granules denses. Cette anomalie plaquettaire peut se rencontrer chez plusieurs membres de la famille. L'acide acétylsalicylique reproduit exactement les mêmes anomalies, pouvant ainsi fausser le diagnostic.

➤ **Déficit en thromboxane synthétase**

Des cas exceptionnels de syndromes hémorragiques avec prolongation excessive du temps de saignements dus à une anomalie de l'agrégation des plaquettes à l'acide arachidonique et à la PGG₂, à cause d'une anomalie de l'enzyme thromboxane synthétase.

➤ **Anomalies de la sensibilité au thromboxane A₂**

On a décrit des cas rares de réduction de la sensibilité des plaquettes au thromboxane A₂ secondaires à trois causes possibles : anomalie de la mobilisation du calcium intracellulaire, augmentation de l'AMP cyclique et anomalie du récepteur du thromboxane A₂ suite à une mutation génétique.

c) **Troubles de la sécrétion plaquettaire**

➤ **Anomalie des granules α : le syndrome des plaquettes grises « SPG »**

Maladie rare de transmission autosomique récessive. La maladie est caractérisée par une absence ou une réduction quantitative des granules alpha. Les premiers symptômes apparaissent à la période néonatale ou la petite enfance incluent une thrombopénie, une tendance aux ecchymoses (pétéchies), des saignements prolongés et des épistaxis. Les patients présentent souvent une myélofibrose et une splénomégalie. La tendance hémorragique est généralement légère ou modérée chez les patients atteints du SPG avec thrombopénie modérée. A l'âge adulte, l'hémorragie peut être mortelle lorsque le taux de plaquettes continue de chuter. Les patients présentent un temps de saignement variable, des taux de B12 élevés, la plupart du temps et une thrombopénie modérée. La numération plaquettaire varie de 25'000 à 150'000 /μl, mais est comprise majoritairement entre 60'000 et 100'000 /μl. Le frottis sanguin par coloration de Wright montre des plaquettes caractéristiques de grande taille, pâles et grises car leur cytoplasme est dépourvu de granulations azurophiles. Le diagnostic de certitude repose sur l'absence ou la réduction des granules alpha observée par microscopie

électronique. Il n'existe pas de traitement spécifique et la prévention du risque hémorragique se fait par transfusion de plaquettes. Le traitement peut inclure l'administration de desmopressine. La splénectomie est envisagée afin d'augmenter le taux de plaquettes chute jusqu'à environ 30 G/L.

➤ **Le déficit en granules denses - maladie du pool vide**

Le syndrome hémorragique causé par ce déficit est modéré. Le temps de saignement est généralement augmenté. La numération plaquettaire ainsi que l'aspect des plaquettes sont normaux. Le volume de sang s'échappant lors de l'exécution du test de temps de saignement par unité de temps est supérieur à la normale, suggérant une anomalie de la contraction vasculaire induite par le déficit. Le sang s'échappant, suite à l'exécution du test de temps de saignement est d'un volume important. Il contient des concentrations diminuées de thromboxane B₂, un métabolite du thromboxane A₂.

Le tracé de l'agrégation par des agonistes faibles tels que l'ADP ou l'épinéphrine généralement ne présentent pas de seconde vague d'agrégation. L'agrégation au collagène à basse concentration est généralement faible, voire absent, à des doses élevées par contre le collagène induit une agrégation quasiment normale en intensité. Le ratio ATP/ADP au niveau plaquettaire est de 3, voire plus.

➤ **Anomalie du FV plaquettaire (thrombopathie Québec)**

L'anomalie plaquettaire du FV Québec plaquettaire est un syndrome hémorragique rare de transmission autosomique dominante. La thrombopénie est inconstante. Il existe une dégradation des protéines des α -granules, une absence de réponse à l'adrénaline et une diminution de la fonction pro-coagulante.

d) **Troubles de l'agrégation plaquettaire**

➤ **La thrombasthénie de Glazmann**

C'est une maladie très rare de transmission autosomique récessive caractérisée par un déficit qualitatif ou quantitatif en GPIIb-IIIa, complexe membranaire responsable de la liaison au fibrinogène et au facteur willebrand lors de la formation du clou plaquettaire. Les niveaux de

fibrinogène dans les granules alpha sont réduits ou nuls à cause du rôle joué par le GPIIb-IIIa dans l'endocytose du fibrinogène plasmatique.

Le tableau clinique de la thrombasthénie de Glanzmann est variable : certains patients présentent seulement quelques ecchymoses alors que d'autres ont des hémorragies fréquentes, sévères et parfois fatales. Les hémorragies sont surtout à type saignements cutanéomuqueux (purpura, épistaxis, gingivorragies, ménorragies) dès l'enfance.

In vivo, Les aspects de la fonction plaquettaire n'impliquant pas uniquement le GPIIb-IIIa ne sont pas modifiés. Les plaquettes interagissent normalement avec le collagène. L'agrégation plaquettaire par la ristocitrine uniquement, à des doses élevées, est normale en intensité et réversible, par la liaison du GPIb-IX-V au vWF, pareillement les plaquettes adhèrent normalement au vWF sous endothélial. ¹L'absence d'agrégation plaquettaire avec tous les agonistes, y compris les agonistes les plus forts doit être recherchée *In vitro*. (Hillman & al, 2007). Le temps de saignement est augmenté, la numération plaquettaire, TP, TCA, Fg sont normaux.

La thérapeutique de base consiste en la transfusion de plaquettes. Dans de rares cas, on assiste au développement d'anticorps dirigés contre le GPIIb et GPIIIa, auquel on peut palier par immunoadsorption sur protéine A sepharose. La contraception orale est utilisée dans le contrôle des ménorragies. Les soins dentaires réguliers sont nécessaires à la prévention des gingivorragies. L'utilisation du facteur VIIa est efficace pour le traitement et/ou la prévention des hémorragies dans un contexte péri-opératoire, en particulier chez les patients ayant développé des allo-anticorps anti GPIIb/GPIIIa. Des cas de guérison par transplantation de moelle osseuse ont également été enregistrés.

➤ Le syndrome des plaquettes Montréal (SPM)

¹ La cytométrie en flux doit être utilisée à la recherche d'une anomalie quantitative ou qualitative du GPIIb-IIIa. La cytométrie en flux peut aussi être utilisée pour mettre en évidence une anomalie d'activation du complexe après stimulation par le TRAP ou l'ADP à forte dose. La biologie moléculaire doit être systématiquement proposée pour faciliter la réalisation des études familiales et le diagnostic chez les jeunes enfants.

e) Trouble de l'activité procoagulante plaquettaire

➤ Syndrome de Scott

Dans ce syndrome de transmission autosomique récessive. Les plaquettes présentent une anomalie d'exposition des phospholipides membranaires. L'anomalie du cytosquelette est associée à un déficit en aminophospholipide-translocase et est responsable du défaut de réponse plaquettaire par anomalie du flip-flop membranaire responsable de la translocation des phospholipides anioniques à la surface plaquettaire. Le test de consommation de la prothrombine permet aisément d'évaluer l'activité coagulante des plaquettes en mesurant la prothrombine résiduelle dans le sérum qui doit être normalement < 10 %. (Samama, M, & al, 2009).

1.2.2.2 Les thrombopathies acquises

➤ Syndromes myéloprolifératifs

La survenue d'hémorragies et de thromboses est fréquente chez les malades atteints de leucémie myéloïde chronique, de thrombocyémie, de polycytémie et de myélofibrose. On y décrit des anomalies morphologiques et quantitatives des plaquettes, modifications des glycoprotéines membranaires (GPIb, IIb-IIIa, IV), absence de récepteurs α_2 -adrénergiques et de récepteur de la PGD₂, anomalie des granules denses et α , anomalies du métabolisme de l'acide arachidonique.

➤ Dysglobulinémies monoclonales

➤ L'insuffisance rénale

Dans le cas d'une insuffisance rénale chronique, la principale cause des syndromes hémorragiques est la présence d'une thrombopathie qui peut être couplée à une thrombopénie. Plusieurs mécanismes ont été proposés comme étant à l'origine de la thrombopathie : accumulation de métabolites toxiques (urée, phénols, ...), synthèse diminuée du TXA₂ et accrue du PGI₂ par les plaquettes et le vaisseau, dégranulation des plaquettes avec augmentation de β -thromboglobuline et de FP4 plasmatiques. L'anomalie fonctionnelle des plaquettes est corrigée par hémodialyse. Le temps de saignement est augmenté, l'agrégation à l'ADP et la sécrétion sont diminuées.

➤ **Médicaments**

Les médicaments inhibiteurs de la fonction plaquettaire, lorsqu'ils sont administrés à des doses élevées, sont à l'origine de thrombopathies acquises et d'hémorragies. Les modifications des fonctions hémostatiques peuvent avoir lieu avec des substances telles que les AINS, le Dextran, les Pénicillines, les céphalosporines, l'héparine, l'alcool, le clopidrogel et les médicaments cardiovasculaires.

➤ **Les surfaces artificielles**

L'implantation de surfaces artificielles en contact avec la circulation sanguine cause toujours des modifications hémostatiques, notamment, avec les valves cardiaques artificielles, les circulations extra-corporelles, les shunts d'hémodialyse, les oxygénateurs, les prothèses des gros vaisseaux. En général, l'anomalie hémostatique associe une diminution du taux des facteurs de la coagulation, une thrombopénie et une thrombopathie, une augmentation de l'activité fibrinolytique. Les plaquettes qui circulent seront vidées du contenu de leurs granules α et denses et analogues à celles de la maladie du pool vide.

1.3 Anomalie de l'hémostase primaire par atteinte plasmatique

1.3.1 Déficit en FvW

a) La maladie de Von Willebrand

Pathologie hémorragique constitutionnelle la plus fréquente de l'hémostase due à une anomalie quantitative ou qualitative du FvW.

> Classification

La classification de la maladie de Von Willebrand qui est représentée dans le tableau qui suit¹.

Le type de la maladie		Type d'anomalie
Type 1		Déficit quantitatif partiel en FvW
Type 2		Anomalies qualitatives du FvW
	2A	Diminution d'affinité du VWF pour les plaquettes, du fait d'un défaut en multimères de haut poids moléculaire du VWF.
	2B	Augmentation de l'affinité du VWF pour la GpIb plaquettaire.
	2M	Diminution de l'affinité du VWF pour les plaquettes mais sans anomalies des multimères de haut poids moléculaire.

¹ Référence du tableau : International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) classification publiée en 1994 et révisée en 2006.

2N	Diminution de l'affinité du VWF pour le FVIII.
Type 3	Déficit quantitatif sévère (quasi-complet) du FvW.

Tableau 4 : Classification ISTH de la maladie de willebrand selon le type d'anomalie du FvW.

➤ Physiopathologie

Le type 1 a une transmission autosomique dominante. Il est du à des mutations des domaines qui interfèrent dans le transport du pro-FvW ou pour l'élimination rapide du FvW. La plupart des mutations concerne le domaine D3.

Le type 2A, de transmission autosomique dominante, est causé par des mutations qui interfèrent en diminuant l'assemblage, la sécrétion de multimères ou en augmentant leur dégradation protéolytique.

Le type 2B, de transmission autosomique dominante, est causé par des mutations qui augmentent pathologiquement l'affinité de la liaison entre le FvW et les plaquettes. Cela aboutit à l'élimination de multimères fonctionnels de FvW et à une thrombopénie causée par la séquestration anormale des plaquettes par le FvW. Le type 2M qui se transmet sur le mode dominant, se caractérise par une diminution de l'interaction entre FvW-GP1b plaquettaire sans compromettre les multimères.

Le type 2N, de transmission autosomique récessive, est causé par des mutations au niveau du site de fixation du FvW au FVIII, ce qui aboutit la diminution de la demi-vie du FVIII et par conséquent la diminution de son taux plasmatique également.

Cette forme se rapproche donc de l'hémophilie A à la seule différence que le déficit en FVIII est du à un défaut de liaison au FvW et non à un déficit constitutionnel en FVIII comme on le voit lors d'une atteinte par hémophilie A.

Le type 3 est une affection autosomique récessive caractérisée par l'absence du FvW et des concentrations très faibles en FVIII. Les mutations (faux sens, délétions ...) peuvent affecter différents domaines du gène du FvW.

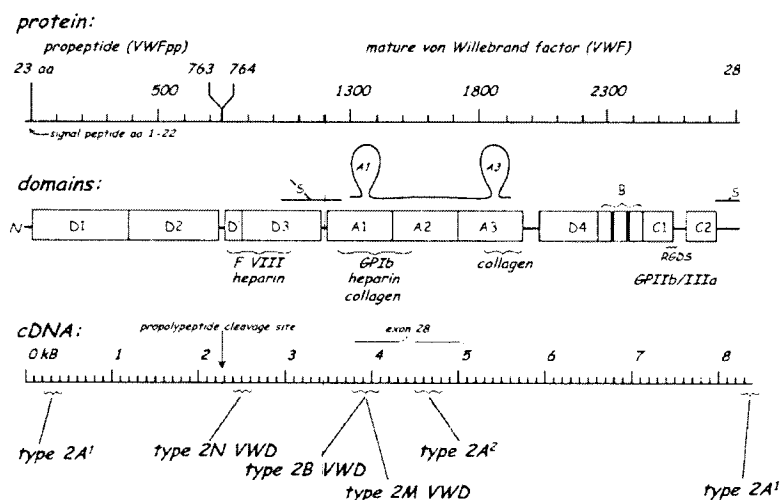


Figure 18 : Localisation des mutations du type 2 de la maladie de willebrand dans le gène codant pour le FvW.

Source de l' image: (National heart lung and blood institute, 2007)

➤ Clinique

Les symptômes les plus fréquents de la maladie de Willebrand sont : épistaxis, hémarthrose, ménorragies, ecchymoses, saignements après coupures mineures, saignement après extraction dentaire, gingivorragies, saignements post-opératoires, hémorragies du post-partum, hémorragies gastro-intestinales.

Les hématomes et les hémarthroses ne sont présents que chez les patients atteints des formes sévères de la maladie de von Willebrand (type 3 et 2N) ou le défaut quantitatif ou qualitatif du FvW s'accompagne de taux faibles en FVIII.

➤ Diagnostic biologique

❖ Diagnostic d'orientation (screening test)

Le temps de saignement est normal, la numération plaquettaire est diminuée en cas de déficit en FvW de type 2B, le TOP est allongé sauf dans le type 2N. Le TQ est normal, le TCA est allongé si les taux de FVIII est très abaissé (type 2N et le type 3) et il est normal pour les autres types.

❖ Diagnostic de certitude

Si le screening tests et les signes cliniques orientent vers la maladie de willebrand, il convient de faire des tests spécifiques à savoir : le FvW : Rco, le FvW : Ag, FVIII. Les variations physiopathologiques (grossesse, GS : O,...) doivent être prises en comptes lors de l'interprétation du dosage du FvW.

Diagnostic de certitude	Principe	Valeur normale (%)	Résultats positifs selon le type de la maladie de willebrand					
			1	2A	2B	2M	2N	3
Dosage de l'activité cofacteur de la ristocétine du FvW: (FvW:RCo)	Evaluation de la capacité du FvW à interagir avec des plaquettes normales grâce à la ristocétine qui possède la propriété de permettre, in-vitro, l'interaction de FvW avec la GPIb plaquettaire.	51-215	↓↓ ou ↓↓↓	↓↓ ou ↓↓↓	↓↓ ou ↓↓↓	↓↓ ou ↓↓ ↓	N ou ↓	A
Dosage de l'antigène du facteur VW (Fvw:Ag)	Test immunologique qui permet le dosage du facteur FvW dans le plasma par l'utilisation d'anticorps spécifique. Parmi les méthodes d'analyse utilisées : ELISA, LIA, électroimmunodiffusion.	52-214	↓↓ ou ↓↓↓	N ou ↓	N ou ↓	N ou ↓	N ou ↓	A

Dosage de l'activité du FVIII (FVIII : C)	Test chronométrique qui permet d'évaluer l'activité fonctionnelle du FVIII	56-191	N ou ↓	N ou ↓	N ou ↓	N ou ↓	↓↓ ou ↓↓↓	↓↓ ou ↓↓↓
---	--	--------	--------------	--------------	--------------	--------------	-----------------	-----------------

Tableau 5 : Tests spécifiques dans le cadre du diagnostic de certitude de la maladie de Von willebrand

Les rapports :

FvW :RCo/FvW :Ag < 0.6 = anomalie de willebrand qualitative (type 2 A ,B,M). Le rapport est voisin de 1 dans les maladies de Willebrand de type 2 N. Le rapport FVIII/VWF : Ag est ≥ 1 dans toutes les formes de maladie de Willebrand sauf pour le type 2 N où il est $< 0,7$, voire $< 0,5$.

Si un des tests sur le FvW est anormal, il faut effectuer d'autres **tests spécialisés** afin de discriminer le type de la maladie.

- Le **test des multimères** est basée sur la distribution des multimères du FvW par technique électrophorétique sur gel d'agarose. Elle permet de distinguer le type 2 (qualitatif) des type 1 et 3. L'illustration de cette méthode et l'interprétation des résultats sont décrites dans l'annexe 7.
- **RIPA** « ristocetin induced platelet agregation » c'est l'appréciation de l'induction de l'agrégation plaquettaire en présence de ristocitrine : elle permet ~~de~~ d'évaluer l'agrégation plaquettaire après liaison du FvW même en présence des taux faibles de ristocitrine. Un RIPA positif indique une maladie de willebrand de type 2B ou un pseudowillebrand. La différenciation se fait grâce au FvW: PB. RIPA est diminué dans le type 3.
- **FvW : PB** (plaquettes- binding) mesure le degré de liaison du FvW à des plaquettes normales en présences de concentrations faibles en ristocitrine. La détermination du taux du FvW lié aux plaquettes se fait par l'utilisation d'un anticorps spécifique. L'augmentation du PB ne se voit que dans le type 2B de la maladie.
- **FvW :BC** : évalue le degré de liaison du collagène au FvW au niveau du domaine A3 qui dépend de la taille des multimères en sachant que les multimères larges se lient plus facilement au collagène.

- **FvW : FVIII B** (binding) : évalue l'affinité de liaison d'un FVIII recombinant de concentration connue au FvW (sans FVIII endogène) du patient obtenu par ELISA immunocapture. Le taux de liaison du FvW au FVIII est déterminé par méthode chromogénique. Ce test permet de différencier la maladie de willebrand de type 2N de l'hémophilie A.
- **Séquençage ADN** du patient à la recherche de mutations responsables de l'anomalie. La localisation des mutations est décrite dans le schéma ci-avant.

➤ **Traitement**

La dDAVP : indiquée dans la maladie de Willebrand en dehors des formes sévères et de la maladie de Willebrand de type 2B car elle peut exacerber la thrombopénie. Elle est efficace dans le traitement des épisodes hémorragiques ou pour leur prévention lors de certains actes chirurgicaux chez environ 70 à 80 % des patients porteurs d'une maladie de type 1. Elle est complètement inefficace dans les types 3 (formes sévères) et d'efficacité variable dans les types 2. Elle est classiquement contreindiquée dans les types 2B car elle risque d'aggraver la thrombopénie. La dDAVP peut être également utilisée dans certaines formes de déficits acquis en VWF mais la correction a une durée de vie plus courte. La dDAVP peut être administrée par voie intraveineuse (Minirin 4 µg/1 ml) ou par voie intranasale (Octim spray). (Samama, M, & al, 2009).

Les concentrés plasmatiques en FvW : réservé aux patients qui ne peuvent pas bénéficier du traitement par la dDAVP.

*b) **Syndrome de willebrand acquis***

Le VWF est produit normalement, mais il est rapidement éliminé du plasma, ce qui induit un déficit en VWF. Trois mécanismes principaux ont été incriminés : la présence d'un autoanticorps anti-VWF (certaines hémopathies, maladies auto-immunes), l'adsorption anormale du VWF sur des cellules tumorales ou activées ou une dégradation protéolytique du VWF (certaines leucémies). (Samama, M, & al, 2009). L'activité du cofacteur de la ristocétine est normale.

1.3.2 Déficit quantitatif en fibrinogène : Afibrinogénémie et hypofibrinogénémie

Désigne le déficit total ou partiel en fibrinogène. L'affection héréditaire est transmise par mode autosomique récessif.

On distingue :

- la forme homozygote ou hétérozygote composite : afibrinogénémie où les niveaux de fibrinogènes presque indétectables (< 10 mg/dL, norme : 150 - 400 mg/dL).
- la forme hétérozygote : hypofibrinogénémie.

Une grande partie d'individus déficients en fibrinogène sont asymptomatiques, l'apparition de symptômes commence à des niveaux inférieurs à 50 mg / dL. Les symptômes observés incluent des saignements des surfaces muqueuses, du tractus gastro-intestinal et urogénital, des ménorragies, des hémarthroses, des hématomes musculaires ainsi que de fréquentes ruptures spontanées de la rate. Les hémorragies intracrâniennes semblent être une cause récurrente de décès chez les patients atteints de ce déficit. Certaines variantes de mutations à l'origine d'hypofibrinogénémie, dont Gly284Arg (fibrinogène Brescia) et Arg375Trp (fibrinogène Aguadilla), ont été documentées comme causant une accumulation du fibrinogène au niveau des hépatocytes dont résulte un dysfonctionnement hépatique ainsi qu'une cirrhose.

L'hypofibrinogénémie peut être acquise par CIVD, cirrhose avec insuffisance hépatocellulaire, nécrose hépatique aigüe, ainsi que par le traitement au L-asparaginase des affections hématologiques malignes causant une baisse des niveaux de fibrinogène allant jusqu'à 20 mg / dL sans atteinte des niveaux des autres facteurs de la coagulation.

Les tests analytiques qui mettant en jeu le fibrinogène (TP, TCA, TT) sont très **augmentés**. Le temps de saignement est également **augmenté**. L'agrégation plaquettaire à l'ADP, au collagène, à l'adrénaline et à la thrombine est **absente**.

Le traitement des hémorragies est la transfusion de fibrinogène tous les 3 à 4 jours afin de maintenir une concentration plasmatique d'environ 1 g/l.

2. Les anomalies de l'hémostase secondaire

2.1 Les déficits en facteurs de la coagulation

Les déficits en facteurs de la coagulation peuvent être d'origine constitutionnelle ou acquise.

2.1.1 Les déficits héréditaires en facteurs de la coagulation

a) Hémophilie A et B

L'hémophilie est une maladie héréditaire de transmission récessive liée à X du à un déficit en facteur VIII (hémophilie A) ou en facteur IX (hémophilie B). L'hémophilie A est plus fréquente que l'hémophilie B. Elle touche environs 1 garçon/5000 tandis que l'hémophilie B touche environs 1 garçon/30000. (Hillman & al, 2007). Etant de transmission héréditaire récessive liée à X. Les filles sont conductrices asymptomatiques de l'hémophilie tandis que les garçons en sont atteints cliniquement.

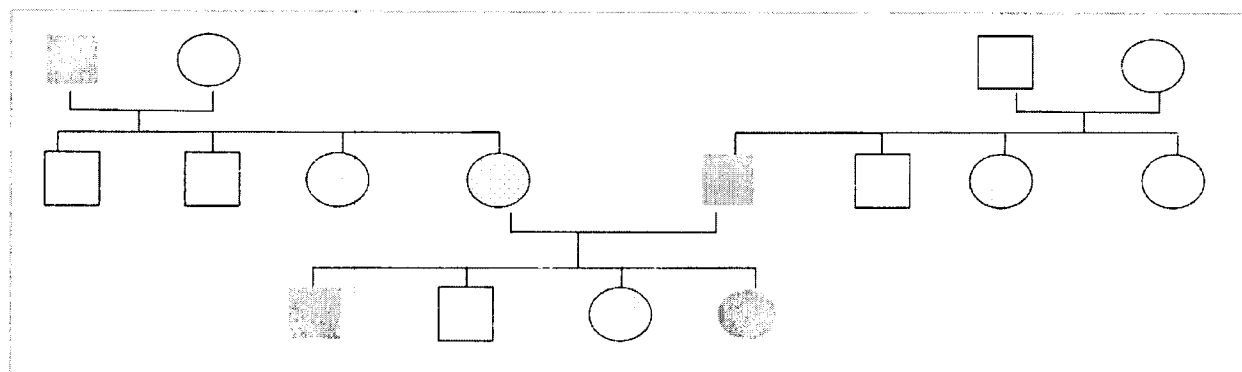


Figure 19 : Mode de transmission de l'hémophilie

Clé :  Femme hémophile
 Homme hémophile

 Femme conductrice de l'hémophilie
 Homme sain

Les filles d'un père hémophile et d'une mère non conductrice sont conductrices obligatoires. Les fils de ces derniers sont indemnes. Les filles nées d'une mère conductrice et d'un père sain ont 50% de chances d'être conductrices de même pour les garçons nés de cette union qui ont 50% de chances d'être hémophiles. L'hémophilie féminine (rare) résulte du croisement d'un père hémophile et d'une mère conductrice de la maladie. Dans ce cas les filles nées de cette union sont soit hémophiles soit conductrices et les garçons sont soit hémophiles soit sains.

Source de l'image : (Hillman & al, 2007).

➤ Physiopathologie

Les gènes codant pour le facteur VIII et le facteur IX sont situés au niveau du bras long du chromosome X. Un seul allèle est donc présent chez l'homme et deux chez la femme. L'hémophilie A peut être due à des délétions partielles ou totales du gène à des mutations ponctuelles touchant pratiquement tous les exons, et plus fréquemment à un phénomène d'inversion ou de recombinaison intra-chromosomique au niveau l'intron 22. Près de 800 mutations ont été décrites dans l'hémophilie B. Ici encore il peut s'agir de délétions plus ou moins importantes ou de mutations ponctuelles. Une mutation rare cause l'hémophilie B de type Leyden où la maladie se corrige à la puberté.

➤ Classification

Selon le taux de facteur VIII ou IX, on peut classer l'hémophilie selon son degré de sévérité comme suit.

- ❖ Un taux indétectable ou inférieur à 1 % : hémophilie sévère avec accidents hémorragiques **spontanés** et nombreux.
- ❖ Un taux entre 2 et 5 % de la normale : hémophilie modérée où les accidents hémorragiques sont nettement moins fréquents, mais tout aussi préoccupants.
- ❖ Au dessus de 5 % : hémophilie mineure où les accidents hémorragiques sont le plus souvent **provoqués**.
- ❖ Lorsque le taux de facteur VIII ou IX est compris entre 15 % et 30 % : hémophilie le plus souvent méconnue.

➤ Clinique

La traduction clinique de l'hémophilie A est similaire à celle de l'hémophilie B. D'une manière générale, l'intensité et la fréquence clinique de l'hémophile est parallèle à la sévérité de l'hémophilie qui dépend du niveau d'abaissement du taux plasmatique du facteur déficitaire. La symptomatologie des hémophilies A et B dans leur forme sévère apparaissent à l'âge de marche de l'enfant. La vie de l'enfant sera ponctuée d'incidents hémorragiques fréquents d'apparition spontanée ou à la suite de traumatismes mineurs de la vie courante. Les manifestations cliniques les plus fréquentes et atypiques sont les saignements des grosses articulations des membres, appelées : hémarthroses, qui sont irréversibles et récidivants. Les

hématomes peuvent être superficiels s'accompagnant d'ecchymoses ou profonds comme l'hématome du plancher de la bouche responsable d'asphyxie, hématomes des muscles abdominaux Il existe des manifestations hémorragiques moins fréquentes telles que les épisodes d'hématurie et les hématomes intracrâniens. À l'inverse, l'expression hémorragique est moins forte en cas d'hémophilie modérée : les hémarthroses sont plus rares, voire absentes; elles font suite à des traumatismes. La forme mineure de l'hémophilie peut rester symptomatiquement silencieuse jusqu'à ce que le patient subisse une intervention chirurgicale ou une extraction dentaire. Le plus souvent de découverte tardive, parfois fortuite lors d'un bilan préopératoire obligatoire.

➤ **Diagnostic biologique**

❖ Diagnostic d'orientation

Bilan de l'hémostase primaire normale (TS normal, TOP normal, FVW normal), TCA **allongé isolément**, TQ normal, TT normal, Fg normal.

❖ Diagnostic de certitude

Dosage spécifique des FVIII / FIX pour diagnostiquer le type de l'hémophilie A ou B, il faut s'assurer que l'allongement est **corrigé** par l'ajout d'un plasma témoin contenant le facteur déficitaire pour éliminer l'étiologie auto-immune. La sévérité de l'hémophilie varie selon le taux du facteur déficitaire.

❖ Diagnostic de la conductrice

L'identification des conductrices de l'hémophilie A ou B est nécessaire pour le conseil génétique et le diagnostic prénatal. L'établissement d'un arbre généalogique est essentiel. Son conductrices obligatoires toutes les filles d'un hémophile et les mères de plusieurs garçons hémophiles. Ces cas ne requièrent pas d'exploration pour déterminer leur statut de conductrices. Les conductrices de l'hémophilie A peuvent être détectées par le rapport des taux de FVIII coagulant et de FvW. A l'état normal, ces deux facteurs sont en proportion stochiométrique 1:1. En vertu du principe d'inactivation aléatoire d'un des deux chromosomes X, les femmes conductrices peuvent exprimer entre 1 et 100% d'activité FVIII coagulante, alors que l'expression quantitative du FvW n'est pas modifiée. Ainsi, un rapport VIII :C/FvW est inférieur à 1 permet d'identifier plus de 90% des conductrices hémophiles A.

L'identification des conductrices d'hémophilie B est généralement basée sur la détection d'un taux bas de FIX ou l'analyse de l'ADN. (Hillman & al, 2007)

❖ Diagnostic prénatal

Si la mère est connue comme étant conductrice de l'hémophilie et surtout si celle-ci est sévère, il convient de faire un diagnostic prénatal. Il faut d'abord procéder à la détermination du sexe de l'enfant. S'il est masculin, un diagnostic prénatal peut déterminer une atteinte du fœtus par l'hémophilie. Les techniques le plus souvent utilisées sont la biopsie des villosités chorales (BVC) et l'amniocentèse. Dans la BVC, on prélève des cellules des villosités chorales dans le placenta entre 11ème et 14ème semaine et l'amniocentèse ou on prélève une petite quantité de liquide amniotique au moyen d'une aiguille fine insérée à travers l'abdomen jusque dans l'utérus. L'amniocentèse a lieu entre 15ème et 20ème semaine de gestation. La détermination du diagnostic prénatal au niveau des cellules prélevées par BVC ou amniocentèse se fait par des méthodes génétiques.

❖ Génotypage

Le génotypage de l'hémophilie est aujourd'hui possible pour l'identification de l'inversion dans l'intron 22, on dispose d'une technique d'analyse d'ADN prête à l'emploi et commercialisée. Cette technique doit être réservée aux cas d'hémophilie A dont le taux de FVIII est inférieur à 1% ou au dépistage des conductrices dans la famille d'un hémophile A sévère. D'autres techniques de dépistage à partir d'ADN (séquençage après amplification par PCR, etc.) permettent de détecter les conductrices dans les familles où l'hémophilie A est modérée, ou en l'absence de l'inversion de l'intron 22, ces cas résultant généralement d'une mutation ponctuelle ou d'une délétion. Lorsque dans une famille, aucune mutation ponctuelle ne peut être identifiée, les conductrices peuvent néanmoins être reconnues par des techniques indirectes de liaison génétique entre un et plusieurs marqueurs polymorphes informatifs permettant de reconnaître l'X lié à la mutation. Il faut noter que les mêmes procédures sont applicables au diagnostic de l'hémophilie B. Ces diagnostics directs ou indirects permettent ~~au~~ le diagnostic prénatal sur l'ADN fœtal obtenu par biopsie de trophoblaste. Toutefois, ces techniques ne peuvent être mises en œuvre que si un cas index familial est reconnu et ne permettent donc pas de déceler les cas d'hémophilie A ou B résultant de nouvelles mutations acquises lors de la méiose (30% des cas). (Hillman & al, 2007)

➤ Traitement

Plusieurs produits antihémophiliques sont disponibles. Ils sont soit purifiés à partir du plasma humain, soit fabriqués par génie génétique. On utilise toujours un traitement visant à substituer la molécule manquante dans l'organisme, FVIII chez l'hémophile A et FIX chez l'hémophile B. L'apparition d'anticorps inhibiteurs anti-FVIII modifie dans presque tous les cas le schéma habituel de traitement. On essaie si possible aujourd'hui de le faire disparaître au moyen d'un protocole d'induction de tolérance immune. Celui-ci utilise des administrations journalières de fortes quantités de FVIII. Les complexes prothrombiques activés ont pour objectif de contourner l'inhibiteur pour activer le système de coagulation directement à partir du FX. Bien que moins efficaces que le FVIII, notamment vis-à-vis des accidents hémorragiques les plus importants, leur efficacité leur confère néanmoins une place indéniable dans l'arsenal thérapeutique disponible.

Le FVIIa recombinant¹ est également utilisé. La thérapie génique vise à introduire le gène du facteur VIII humain dans plusieurs types de cellules sous forme d'un vecteur où le gène est couplé à un adovirus.

Il convient également de signaler que de façon maintenant assez large la dDAVP est utilisée comme alternative thérapeutique chez l'hémophile mineur dès lors que le niveau plasmatique basal du FVIII atteint 7 à 10 %. (Samama, M, & al, 2009).

Les deux principales caractéristiques que doit satisfaire le traitement sont :

- La sécurité : au premier plan se trouve la transmission d'agents infectieux. Ainsi, les marqueurs d'infections virales (HIV, HBV, HCV) doivent être recherchés au cours du suivi du traitement de l'hémophilie.

- L'efficacité : la présence d'allo-anticorps suite au traitement doit également être contrôlé régulièrement au cours du suivi du traitement de l'hémophilie.

¹ Obtenu par génie génétique.

b) Les autres déficits héréditaires en facteurs de la coagulation

Les déficits constitutionnels en facteurs de la coagulation en dehors de l'hémophilie sont transmis sous le mode autosomique récessif ou dominant. Ces déficits sont le plus souvent dus à une diminution de leur synthèse (déficit quantitatif) ou plus rarement à une synthèse d'une protéine non fonctionnelle.

L'orientation du diagnostic se fait selon les trois tests principaux : TCA, TQ et TT. Le diagnostic de certitude se fait grâce au dosage spécifique du facteur suspecté être déficitaire.

(Voir Tests d'exploration de l'hémostase secondaire page 60).

Type de déficit	Mode de transmission	Prévalence	Résultats des tests biologiques d'orientation	Manifestations cliniques	Traitement substitutif
Déficit en FVII	AR ¹	1 pour 500 000	TQ allongé TCA normal TT normal	Chez les homozygotes : -Soit patients asymptomatiques : diagnostic fortuit ou méconnu. -Soit : Signes hémorragiques précoces : risque d'hémorragie du cordon ombilical à la naissance ou de céphalématome. Signes fréquents : saignements cutanéomuqueux : épistaxis, ecchymoses spontanées, ménorragies, gingivorragies. Signes graves pas systématiques: hémarthroses susceptibles de générer une arthropathie chronique, d'hémorragies digestives et des saignements au niveau du SNC. Chez les hétérozygotes, le plus souvent asymptomatique	FVII d'origine plasmatique ou recombinante
Déficit	AR ²	1 pour	TQ allongé	La clinique peut apparaître	Pas de

¹ Plus de 100 mutations ont été identifiées. La mutation Ala244Val, Arg304Gln et Ala294Val étant les plus fréquemment rencontrées.

² Parmi les 60, 75% sont des mutations faux-sens.

en FX		500 000	TCA allongé TT normal	pratiquement à tous les âges. Asymptomatique chez les hétérozygotes Chez les homozygotes : la plupart des manifestations cliniques sévères se révèlent très tôt dans la vie : saignements du cordon ombilical, épistaxis, ménorragies, ecchymoses, hématuries, hémarthroses, saignements gastro-intestinaux, saignements post-traumatiques, post-partum et post-chirurgicaux.	concentré de FX commercialisé. - Recours au PPSB (Kaskadil®).
Déficit en FII	AR ¹	1 pour 2 millions	TQ allongé TCA allongé TT normal	hémorragies cordonales graves à la naissance -patients homozygotes (taux entre 2 et 20%) et l'absence totale en FII semble être létale. -Accidents hémorragiques non spécifiques : hématomes musculaires, ecchymoses spontanées, épistaxis, ménorragies, hémorragies du post-partum. -patients hétérozygotes : le plus souvent asymptomatiques ou En cas de déficit sévère : Tableau de type hémophilie comportant des hémarthroses, arthropathies chroniques (même chez des patients ayant des taux mesurables de FII).	Pas de concentré de FII commercialisé. - Recours au PPSB (Kaskadil®).
Déficit combiné constitutionnel en facteurs vitamine K-	AR ²	Rarissime environ 30 cas rapp	TQ allongé TCA allongé TT normal	-Saignements cutanéomuqueux. -Hémorragie du cordon ombilical à la naissance. -Hémorragies intracrâniennes (rares). -Dysmorphie faciale, anomalies	Vitamine K

¹ Plus de 50 mutations ont été identifiées. Dans le cas de la dysprothrombinémie, les mutations faux-sens sont à l'origine de l'impossibilité de la conversion de la prothrombine vers la thrombine (Arg457Gln, Arg271Cys), ou à l'origine d'une thrombine fonctionnellement anormale (Arg418Trp).

² Mutations ponctuelles au niveau du gène (GGCX) codant pour la gamma-glutamyl-carboxylase ou au niveau du gène (VKOR) codant pour la vitamine k époxide réductase.

dépendants		ortés seul ement		squelettiques (très rares). Malgré la réduction aussi de inhibiteurs de la coagulation (protéine C, Z, S) la diathèse est hémorragique et non thrombotique.	
Déficit combiné en FV et FVIII	AR ¹	1 pour 1 million	TQ allongé TCA allongé	Facteurs V et VIII présents à des taux de 5 à 20%. Epistaxis, saignements après effraction, ménorragies. Formes graves : hémarthrose, hémorragies cérébrales rares.	Plasma frais congelé. ²
Déficit en FV	AR ³	1 pour 1 million	TQ allongé TCA allongé TT normal	Chez les homozygotes : signes hémorragiques précoces. Epistaxis, hématomes. Hémarthroses (chez 5 % des déficitaires sévères). ⁴ Chez les hétérozygotes, asymptomatique.	Plasma frais congelé.
Déficit en FXIII	AD	1 pour 3 millions	TQ normal TCA normal TT normal	Chez les homozygotes, manifestations hémorragiques sévères retardées. La chute du cordon ombilical est hémorragique dans 90% des cas. On a des anomalies de cicatrisation des plaies. Asymptomatique chez les hétérozygotes,.	Concentré FXIII (Fibrogammmin®)
Déficit en FXI ¹	² Principalement : AR récessif Parfois :	1 pour 100 000	TQ normal TCA allongé	Saignements provoqués par des gestes chirurgicaux, circoncision, extractions dentaires, sphère ORL, amygdalectomies, chirurgie de la cavité buccale, chirurgie de la	Concentré FXI

¹ Mutations au niveau du gène LMAN au niveau du chromosome 18 q21 et MCFD2 au niveau du chromosome 2p21 codant pour des protéines de transport intracellulaire des facteurs V et VIII.

² Le temps de demie vie du facteur VIII est inférieur à celui du facteur V il faut donc une injection du PFC quotidienne.

³ Approximativement 40 mutations ont été identifiées comme étant à l'origine du déficit en FV. Tyr1702Cys étant celle revenant le plus souvent.

⁴ Ceci a valu au déficit de FV le nom de para-hémophilie d'Owren.

	AD		TT normal	vessie, utérus, hémorragies au post-partum. Absence de manifestations cliniques chez les hétérozygotes.	
Déficit en FXII (facteur Hageman)	AR ³		TQ normal TCA allongé TT normal	Absence de syndrome hémorragique	Pas la peine de substituer.
Déficit en prékallikréine (PK)	AR		TQ normal TCA allongé TT normal	Absence de syndrome hémorragique	/
Déficit en KHPM	AR		TQ normal TCA allongé TT normal	Absence de syndrome hémorragique	/

Tableau 6 : Déficits constitutionnels en facteurs de la coagulation¹⁷

¹ Un déficit des facteurs de la voie de contact sauf celui en facteur IX n'entraîne aucun syndrome hémorragique. Ceci est dû au fait que le FXI participe à la génération de thrombine en quantité suffisante grâce à une boucle de rétro-activation pour assurer une hémostase correcte. Lors de déficit en FXI, cette boucle ne fonctionne plus expliquant en partie les syndromes hémorragiques.

² 100 mutations du gène du facteur XI ont été identifiées. Cys38Arg et Cys128Stop ont été identifiées comme étant les plus fréquentes.

³ Approximativement 20 mutations à l'origine du déficit ont été identifiées.

¹⁷ Les déficits constitutionnels en FvW, FVIII et FIX ont été cités ou seront cités dans la maladie de willebrand, l'hémophilie A et l'hémophilie B respectivement.

2.1.2 Les déficits acquis en facteurs de la coagulation

Les déficits acquis en facteurs de la coagulation concernent habituellement plusieurs facteurs à la fois et découlent soit d'une atteinte d'organe, ou d'une synthèse défectueuse, ou de la neutralisation du facteur par un anticoagulant circulant.

a) Insuffisance hépato-cellulaire

La synthèse de la plupart des facteurs de la coagulation et de leurs inhibiteurs se faisant au niveau du foie, l'atteinte de cet organe cause des anomalies de l'hémostase.

La thrombopénie y est modérée et est liée à l'existence d'un hypersplénisme. Le temps de Quick est **allongé** et est lié à une atteinte des facteurs II, VII et X. Le temps de thrombine est **allongé** et est lié à la dysfibrinogénémie. L'activité fibrinolytique est augmentée à cause de la diminution de la clairance du t-PA. Le TCA est **variable**, il peut être augmenté exprimant un déficit en facteur IX et en prékallicréine, ou normal grâce à une augmentation compensatrice en facteur VIII.

b) Déficit en vitamine K

La vitamine K est nécessaire à la maturation post-traductionnelle des facteurs VII, IX, X et II. L'avitaminose K peut être due soit à un défaut d'absorption intestinale par atteinte de la muqueuse, résection chirurgicale étendue, anomalie de l'excrétion des sels biliaires, soit suite à un traitement antibiotique causant la destruction de la flore intestinale ou exerçant une action antivitamine K dans le cas de certaines céphalosporines, soit à une alimentation parentérale prolongée non compensée, ou à une intoxication volontaire par certains antivitamine K (raticides). L'hypovitaminose K peut également être liée à un traitement anti vitamine K qui bloque la gamma carboxylation.

Le diagnostic repose sur l'allongement du TCA et du TQ, l'abaissement dissocié des facteurs du complexe prothrombinique : facteurs II, VII et X très abaissés et facteur V normal, et sur l'efficacité rapide la vitamine K1 (5-10 mg) par voie I.V.

Notons que chez le NN, une carence en vitamine K liée à un apport faible du lait maternel, un déficit de synthèse par la flore intestinale, une immaturité hépatique pathologique peut être à l'origine d'une maladie hémorragique qui se manifeste sous trois formes :

- La forme précoce : elle survient dès les premières 24h suivant la naissance. On la trouve surtout chez les NN dont les mères ont suivi certains traitements antibiotiques, antiépileptiques pendant leur grossesse.
- La forme classique : elle survient entre le 2ème et le 7ème jour de vie, sous forme d'hémorragie digestive ou cutanée.
- La forme tardive : elle survient après la 1ère semaine de vie (2^{ème} à la 12^{ème} semaine de vie) apparaît chez les enfants exclusivement nourris au sein.

La clinique de la maladie hémorragique du NN se traduit par des hémorragies digestives et cérébrales. A cet effet, la prophylaxie se base sur l'administration par voie intramusculaire de vitamine K aux NN.

c) Présence d'un anticoagulant circulant

Chez certains malades ne présentant pas d'antécédents hémorragiques peuvent apparaître des manifestations cliniques plus ou moins graves liées d'inhibiteurs acquis de la coagulation, dirigé contre un facteur spécifiquement. Les circonstances d'apparition des anticorps anti facteur sont décrites dans le tableau joint dans l'annexe 5.

Les anticorps anti-facteurs sont de nature immunoglobulinique. Il s'agit le plus souvent d'anticorps neutralisant dirigés contre le site actif du facteur. Plus rarement, il s'agit d'anticorps formant des complexes rapidement éliminés par le système réticuloendothélial. Ils n'ont pas d'activité antiphospholipide. Leur présence dans le plasma est caractérisée par l'allongement d'un ou de plusieurs tests de la coagulation (TCA, TQ, TT) selon le type de facteur contre lequel est dirigé l'anticorps. Cet allongement s'accompagne du déficit en facteur contre lequel est dirigé l'anticorps et **n'est pas corrigé** par l'ajout d'un plasma témoin ou de phospholipides.

L'inhibiteur le plus souvent rencontré est celui dirigé contre le facteur VIII : **pseudo hémophilie ou hémophilie acquise**¹. Le diagnostic biologique repose sur la recherche d'un ACC par le test dit « du mélange Malade + Témoin » doit être systématiquement effectuée devant un TCA allongé isolément.

¹ Le plus souvent l'anticorps est de type IgG.

« Ce test consiste en la pratique d'un TCA sur un mélange Volume/volume du plasma du patient avec celui d'un sujet témoin ou d'un mélange de plasmas normaux. Par exemple, en cas d'absence d'un ACC dirigé contre le FVIII, le TCA (M+T) **est corrigé** ; en cas de présence d'ACC, le TCA (M+T) **reste allongé**.

- Calcul de l'indice de Røstner

$$\text{IR (\%)} = 100 \times [\text{TCA (malade + témoin)} - \text{TCA (témoin)}] / \text{TCA (malade)}$$

Interprétation selon la Société internationale d'Hémostase – Thrombose

- < 12 % : Absence d'anticoagulant circulant (orientation vers un déficit en facteurs de la coagulation)
- 12 – 15 % : Zone d'incertitude
- >15 % : Présence d'un anticoagulant circulant (n'exclut pas un déficit en facteurs de la coagulation)

Cependant, les ACC type anti-FVIII (ou auto-anticorps anti-FVIII) sont dépendants de la durée et de la température d'incubation de ce mélange. Ainsi, devant un TCA allongé avec un déficit en facteur VIII isolé et quel que soit le résultat du mélange (M+T), la présence d'un ACC anti-FVIII doit être évoquée. Par conséquent, seule la recherche spécifique d'un auto-anticorps anti-FVIII par dosage du FVIII après une incubation du mélange (M+T) pendant 2 heures à 37° C permettra de confirmer ou d'infirmer le diagnostic. En cas de dépistage positif, l'ACC anti-FVIII doit être titré par technique de Bethesda dont la méthode et l'interprétation des résultats sont décrites dans **l'annexe 6**. » (Trossaër & Guillet).

Le traitement hémostatique n'est indiqué qu'en cas d'hémorragie sévère ou de procédure invasive avec effraction vasculaire à risque hémorragique. Un patient déficitaire en un facteur de la coagulation ayant un anti-facteur à taux faible ou modéré peut être traité par des concentrés de ce facteur, en instituant une tolérance immune. Au-delà de 10 UB, l'anticorps ne peut être neutralisé et le patient devra recevoir une autre thérapeutique substitutive concentrés de facteurs d'origine animale ou facteurs activés de la coagulation : Autoplex®, Novoseven®.

3. Les anomalies de la fibrinolyse

L'association entre les anomalies des protéines de la fibrinolyse et les accidents thrombotique est de loin bien moins marquée que celles observée lors des déficits en protéine C, protéine S, anomalie du facteur V, ainsi que la mutation du gène de la prothrombine.

La dysplasminogénémie ou hypoplasminogénémie a déjà été signalée chez quelques patients souffrants de thromboses au japon.

Le déficit sévère en plasminogène est retrouvé chez les patients homozygotes ou hétérozygotes composites de plusieurs mutations touchant le gène du plasminogène. Le déficit est associé à une maladie inflammatoire des muqueuses chronique et rare. Aucun cas d'accidents thrombotiques n'a été observé chez ces patients.

Le déficit en $\alpha 2$ -antiplasmine est une maladie rare dont la prévalence exacte est inconnue. La maladie se présente par des hémorragies suite à des traumatismes ou des chirurgies, après résorption du caillot. Les formes homozygotes sont bien plus sévères que les formes hétérozygotes qui peuvent souvent être asymptomatiques.

Le diagnostic biologique est souvent un diagnostic d'élimination, car les tests classiques de l'hémostase restent normaux. Le diagnostic de certitude nécessite la mesure spécifique de l' $\alpha 2$ -antiplasmine. Les mesures plus générales de la fibrinolyse peuvent être perturbées, avec par exemple un raccourcissement des temps de lyse du caillot de sang total ou du caillot des euglobulines, mais de façon non systématique.

La prise en charge thérapeutique peut être limitée à l'utilisation d'antifibrinolytiques comme l'acide tranexamique ou passer par un apport de plasma frais congelé qui contient de l' $\alpha 2$ -antiplasmine fonctionnelle.

Dans le déficit en PAI-1, la clinique est proche de celle du déficit en $\alpha 2$ -antiplasmine, avec des survenues tardives d'hémorragies post-traumatiques et post-chirurgicales le plus souvent.

Comme pour le déficit en $\alpha 2$ -antiplasmine, le diagnostic biologique est un diagnostic par élimination à cause de la rareté du déficit, mais, aussi, de la difficulté de mesurer la baisse de l'activité du PAI-1.

II- Les états thrombotiques

Il n'existe pas de définition consensuelle de thrombophilie, ce terme a été créé par Egeberg en 1965. Il est classique de réserver cette dénomination à des anomalies pouvant modifier la balance hémostatique responsables d'un état d'hypercoagulabilité (thrombotique). Wautrecht décrit dans son rapport intitulé : « la maladie veineuse thromboembolique », le terme thrombophilie comme : « (...)... des anomalies de l'hémostase susceptibles de prédisposer à la thrombose. ».

➤ Thrombopénie induite par l'héparine (TIH)

On distingue deux types de thrombopénies survenant au cours du traitement par une héparine, qu'elle soit non fractionnée ou de bas poids moléculaire : la thrombopénie de type I, bénigne, d'origine non immune et d'apparition précoce sans complications thrombotiques et régressant malgré la poursuite du traitement par l'héparine et la thrombopénie de type II ou TIH proprement dite, qui s'oppose à la première car elle est d'apparition plus tardive, plus grave, d'origine immune et avec complications thrombotiques. La TIH II se développe dans plus de 80 % des cas entre le 5^e et le 15^e jour et exceptionnellement après la 3^e semaine du traitement par l'héparine. La thrombopénie est à 40 à 50% de sa valeur initiale, et souvent sévère, inférieure à 100 G/L voire proche de 20 G/L. Lors de la TIH II, l'héparine¹ après sa liaison au FP4 induit son changement conformationnel qui permet l'exposition d'épitopes susceptibles d'être reconnus et d'induire la synthèse d'anticorps dirigés contre le complexe macromoléculaire héparine/FP4² plaquettaire. Les anticorps impliqués lors des TIH sont essentiellement des IgG³ qui entraînent l'activation des plaquettes en fixant leurs fragments Fc sur des récepteurs plaquettaires FcγRII membranaires (CD32)⁴.

Il en résulte un véritable état d'**hypercoagulabilité** acquise d'origine immune associé à une activation plaquettaire et cellulaire disséminée impliquant les monocytes et les cellules

¹ Des glycosaminoglycanes autres que l'héparine telle que le polysulfate de pentosane ou le chondroïtine sulfate hautement sulfaté peuvent aussi modifier la structure du FP4 et entraîner une TIH. (Gruel & Pouplard, 2000)

² Dans quelques cas, des anticorps spécifiques de l'IL-8 ou encore plus rarement du NAP-2 ont été détectés chez des patients ayant une TIH typique. (Gruel & Pouplard, 2000)

³ Chez certains patients ayant un tableau typique de TIH, seuls des anticorps d'isotype IgA et/ou IgM ont été retrouvés. Les neutrophiles et les monocytes expriment à leur surface des récepteurs pour le fragment Fc des IgA alors que les LT et les LB en possèdent pour le fragment Fc des IgM. (Gruel & Pouplard, 2000)

⁴ Il a été récemment montré par Newman et Chong que les IgG se fixent aux plaquettes par leurs fragments Fab à condition qu'il existe au préalable une faible activation plaquettaire entraînant une libération de FP4. (Newman & Chong, 2000)

endothéliales et se manifestant par un syndrome thrombotique (apparition d'accidents thrombotiques artériels et/ou veineux). La thrombopénie résulte d'une part de la consommation excessive des plaquettes, engendrée par l'état d'hypercoagulabilité et d'autre part de l'élimination par les phagocytes des plaquettes sensibilisés par les anticorps. L'apparition d'anticorps ne déclenche pas obligatoirement un accident thrombotique. Ce risque dépend aussi du contexte clinique (risque augmenté en cas de conditions postopératoires).

Le diagnostic repose sur la confirmation de la thrombopénie sur frottis sanguin puis sur la recherche d'anticorps dirigés contre le PF4 par méthode immunoenzymatique ELISA. Des tests d'activations plaquettaires sont également possibles. Si l'ELISA et l'activation plaquettaire reviennent négatifs, il est peu probable qu'il s'agisse d'une TTH et l'inverse est vrai. Il convient lors d'une TTH de rechercher une CIVD qui pourrait compliquer le tableau. Le traitement de la TTH est principalement : le danaparoiide sodique ou le lépirudine. Les AVK ne doivent jamais être administrés seuls. Le diagnostic précoce repose sur la surveillance thérapeutique (numération plaquettaire) avant et 5 jours après le traitement par l'héparine.

➤ Les hyperplaquettoses

Une hyperplaquettose correspond par définition à une numération plaquettaire $> 500 \text{ G/l}$.

Bien que dans près de la moitié des cas l'hyperplaquettose soit découverte chez des patients asymptomatiques, les complications thrombotiques font toute la gravité de la maladie. Le risque thrombotique est majoré par l'âge avancé (> 65 ans) du patient.

Il est important de distinguer :

a) L'hyperplaquettose primitive

Elle traduit une atteinte médullaire. Les syndromes myéloprolifératifs peuvent s'accompagner d'une hyperplaquettose : la thrombocythémie essentielle, la leucémie myéloïde chronique, la polyglobulie de Vaquez, la splénomégalie myéloïde.

Les syndromes myélodysplasiques sont également à l'origine entre autres d'une hyperplaquettose : l'anémie réfractaire sidéroblastique idiopathique et le syndrome 5q-.

b) L'hyperplaquettose secondaire

Elle est transitoire ou durable. La thrombocytose transitoire survient après une intervention chirurgicale, un traumatisme, un post-partum ou un stress. Par ailleurs, la réparation d'une thrombopénie peut parfois induire de façon passagère une élévation du nombre de plaquettes circulantes. Certains médicaments comme les corticoïdes et les androgènes peuvent également induire l'augmentation de la numération plaquettaire. Les thrombocytoses durables sont des hyperplaquettoses persistantes qui peuvent apparaître dans le contexte d'un syndrome inflammatoire, d'une carence martiale, d'une post-splénectomie ou d'un cancer.

➤ PTT, SHU et le syndrome de HELLP

Les microangiopathies thrombotiques: elles surviennent un ensemble de pathologies distinctes caractérisées par l'association d'une anémie hémolytique mécanique (qui se traduit par la présence de schizocytes sur le frottis sanguin), d'une thrombopénie périphérique de consommation, et de défaillances d'organe de sévérité variable. Au plan histopathologique, le syndrome de MAT se définit par la présence de microthrombi obstruant la lumière des capillaires et des artérioles de la microcirculation. Elles reflètent principalement les trois pathologies suivantes.

➤ Déficit sévère en ADAMTS13 : « le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) »

Il s'exprime par l'association de cinq types de symptômes : un épisode fébrile, anémie hémolytique avec fragmentation érythrocytaire (schizocytes) : une thrombopénie sans signe de défibrination, une insuffisance rénale et des troubles neurologiques liés à la présence de microthrombi obstruant les capillaires des glomérules rénaux et dans la circulation cérébrale. Il est dû à un déficit en métalloprotéase ADAMTS13 dans sa forme familiale, et à une diminution de l'activité de cette enzyme dans sa forme sporadique. Sa forme congénitale suit un mode de transmission autosomique récessif due à la mutation du gène codant pour la métalloprotéase ADAMTS13. Le PTT peut également avoir une origine iatrogène. Le diagnostic se fait grâce à l'évaluation du taux plasmatique de la métalloprotéase. Le taux d'activité est inférieur à 5%.

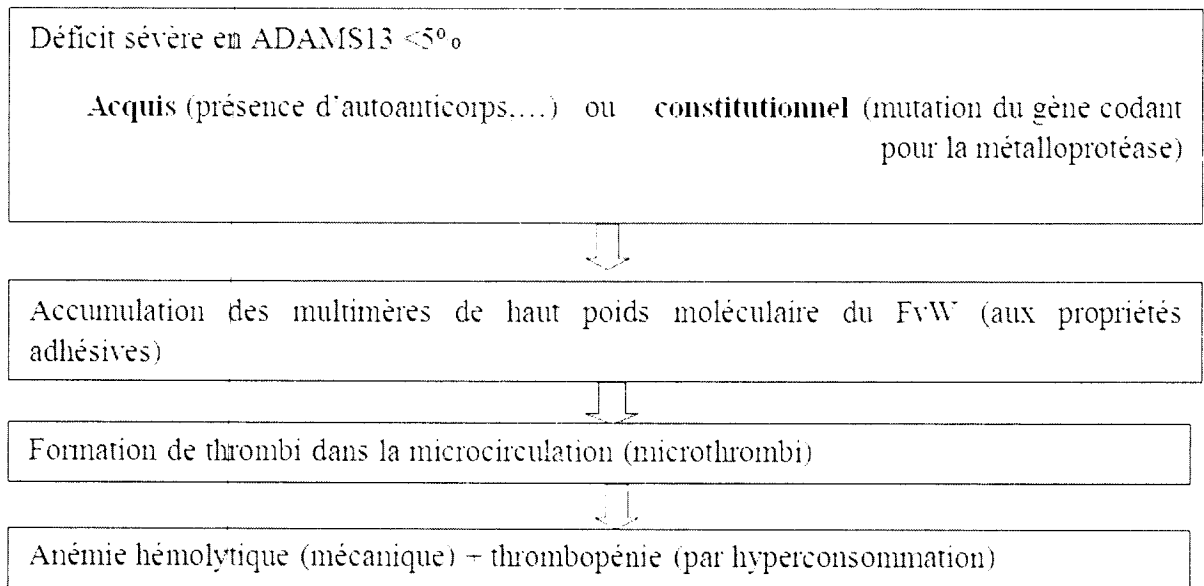


Figure 20 : Physiopathologie du PTT

➤ Le syndrome HELLP « Hemolysis Elevated Liver enzymes and Low Platelets »

Considéré comme complication sévère de la deuxième partie du deuxième et troisième trimestre de la grossesse, le HELLP syndrome correspond à une microangiopathie gravidique disséminée qui est la conséquence d'un défaut d'implantation trophoblastique. Celui-ci entraîne un déséquilibre local d'expression des médiateurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs aboutissant à une ischémie placentaire et à l'atteinte microvasculaire qui correspond à une vasoconstriction et à un état thrombotique. Il s'en suit une hémolyse mécanique, une thrombopénie due à un déficit en prostacycline, un excès de thromboxane A2 et une élévation du facteur von Willebrand par diminution du taux de la protéine ADAM TS13 responsable de son clivage. Les dépôts obstructifs de fibrine dans les sinusoides hépatiques sont responsables d'une nécrose hépatocytaire se manifestant par une cytolysé hépatique (Collinet & Jourdain, 2007). Le diagnostic biologique repose sur la triade : thrombopénie, cytolysé hépatique et hémolyse. La thrombopénie peut être d'apparition progressive ou rapide et s'accompagne d'un bilan d'hémostase normal avec absence de coagulation intravasculaire disséminée.

➤ Le syndrome hémolytique et urécémique (SHU)

Il affecte principalement les jeunes enfants généralement de moins de 5 ans, au décours d'un épisode de diarrhée sanglante par entérocolite infectieuse à E.coli ou à tout germe producteur de verotoxine. L'insuffisance rénale est généralement au premier plan des manifestations, la

thrombopénie et l'anémie hémolytique par fragmentation sont moins prononcées que dans le PTT et les signes neurologiques généralement sont absents. (Hillman & al, 2007).

➤ **Déficit en AT**

Déficit transmis par le mode autosomique dominant¹ identifié chez 0.02% de la population générale.

Le gène de l'antithrombine est localisé sur le chromosome 1 q23-25. Plus de 250 mutations ont été décrites pour ce déficit.

Le déficit héréditaire en AT est divisé en :

- **Type I** : déficit quantitatif entraînant une diminution de la concentration de l'AT et de son activité.
- **Type II** : déficit qualitatif entraînant une diminution de l'activité de l'AT sans diminution de sa concentration.

Le Type II est à son tour divisé en 3 sous-types :

- **Type IIa** : est causée par des mutations qui affectent AT site réactif, c'est-à-dire la région où se lie l'AT à sa protéase cible (thrombine et FXa principalement).
- **Type IIb** : caractérisée par une anomalie du domaine de liaison de l'AT à l'héparine, au niveau du HBS (heparin binding site).
- **Type IIc** : groupe pleiotropique de mutations qui interfèrent au niveau de l'interaction de l'AT avec sa protéase cible après qu'elle s'est liée à l'héparine.

L'expression clinique comporte essentiellement des accidents veineux. Les trois plus fréquents sont la thrombose veineuse profonde des membres, l'embolie pulmonaire et la thrombose veineuse cérébrale. Le risque de développer un accident thromboembolique veineux augmente entre l'âge de 20 à 50 ans. Passé l'âge de 40 ans, 50% des sujets porteurs de ce déficit l'auront exprimé cliniquement, soit spontanément, soit à l'occasion d'un facteur favorisant tel qu'une grossesse, une chirurgie, ou un traumatisme.

Les patients ayant un déficit de sous-type II-b ont un risque plus faible de développer une thrombose en comparaison avec les autres sous-types.

¹ La diathèse familiale est conséquente car ce type de déficit se transmet par le mode autosomique dominant.

Il est important d'éliminer l'étiologie acquise avant d'explorer la piste héréditaire d'autant plus qu'elle est plus fréquente :

- Diminution de la synthèse de l'AT (en cas de cirrhose hépatique)
- Augmentation de l'élimination de l'AT (en cas de : Syndrome néphrotique, protéinurie)
- Médicaments induisant un déficit en AT (en cas de : asparaginase, héparine)
- Consommation accrue ou inactivation de l'AT (Septicémie avec CIVD, brûlures, polytraumatismes, microangiopathies thrombotiques, la circulation extracorporelle, hématomes massifs, tumeurs.)

L'étiologie héréditaire peut être confirmée par l'enquête familiale du patient quand les tests de l'AT sont anormaux et que les causes d'un déficit acquis en AT ont été écartées.

Le diagnostic biologique repose sur les **tests fonctionnels** mesurant l'activité de l'AT. Il n'est pas nécessaire d'effectuer un **dosage de l'AT** si son activité est normale (*voir Tests d'exploration de l'hémostase secondaire page 60*). L'utilisation du dosage comme un screening test est d'autant plus inutile vu qu'il n'écarte pas le déficit qualitatif de type II.

Il est préférable d'éviter d'effectuer les tests biologiques au cours d'une héparinothérapie ou d'une thrombose aiguë au risque de fausser les résultats des tests. Si les essais fonctionnels sont positifs, il convient d'effectuer le dosage de l'AT pour distinguer entre le déficit de type I et II.

Les valeurs des patients ayant un déficit constitutionnel en AT sont dans l'intervalle 40 à 60%. Il existe une diminution des niveaux d'AT chez le NN de moins de 6 mois et les femmes sous contraception oestroprogestative.

Il n'est pas indiqué d'effectuer un diagnostic prénatal et une analyse génétique en vue de la grande variabilité des mutations responsable du déficit en AT. De plus, la connaissance éventuelle précoce n'influence en rien l'attitude pré et périnatale à adopter.

➤ **Déficit en PC**

La forme hétérozygote dominante est transmise via un mode autosomique dominant. Il existe une forme plus sévère de la pathologie transmise via le mode autosomique récessif.

Le tableau clinique est similaire à celui du déficit en antithrombine III.

Chez les familles ayant l'anomalie à l'origine du déficit en protéine C, 70% des membres ont déjà été victimes d'au moins un épisode thrombotique, les 30% restant en développent généralement lorsque exposés à des facteurs de risque (contraception orale, traumatismes, immobilisation, grossesse, ...)

Souvent asymptomatique jusqu'à la vingtaine, la majorité des patients déficitaires en protéine C auront connu des accidents thrombotiques à la cinquantaine.

La prévalence du déficit sévère est estimée à 1/ 500 000. Les déficits partiels (formes hétérozygotes) sont beaucoup plus fréquents (1/200 - 1/500). Parmi les patients admis pour thromboembolisme veineux, 0,5 à 4% présentent un déficit en protéine C. Selon « The Leiden Thrombophilia Study » le déficit en protéine C multiplie le risque de survenue de thromboses par 7.

195 mutations génétiques ont été identifiées comme étant à l'origine du déficit en protéine C. Deux types majeurs du déficit hétérozygote en protéine C ont été dégagés sur la base des tests immunologiques et fonctionnels. Le type I est le plus commun et est caractérisé par une valeur égale à 50% de la valeur normale des tests immunologiques et fonctionnels. Le type II est caractérisé par des niveaux normaux de protéine C (test immunologique), mais une activité fonctionnelle amidolytique diminuée.

Le niveau normal de protéine C est de 4 µg / mL. Chez une population d'adultes sains, la distribution des niveaux de protéine C se fait selon une loi log-normale, avec 95% des valeurs comprises entre 70% et 140% de la valeur normale. Il n'existe aucune variation liée au sexe, cependant une augmentation de 4% du niveau moyen par décennie d'âge a été observée. Chez le nouveau-né les niveaux de protéine C varient de 20 à 40% de la valeur adulte.

Le déficit est déclaré comme existant pour toute valeur en dessous de 55% de la valeur moyenne, qui sera par la suite confirmée par une étude familiale à la recherche d'une transmission autosomique dominante. L'historique médicamenteux est particulièrement important lors du diagnostic biologique, la consommation de warfarine réduit considérablement l'activité biologique de la protéine C et à un taux moindre son taux plasmatique. Devant un cas où il est impossible de cesser la prise d'anticoagulants, il est préconisé de remplacer la warfarine non fractionnée ou à bas poids moléculaire qui n'altère pas les taux plasmatiques en protéine C.

Le déficit en protéine C peut être acquis suite à une pathologie hépatique, un choc septique, une CIVD, un cancer du sein traité par cyclophosphamide, methotrexate, 5-fluorouracil.

Contrairement à l'antithrombine III, les niveaux de protéine C (ainsi que les autres protéines Vit. K dépendantes) sont souvent élevés lors de l'existence d'un syndrome néphrotique.

➤ **Déficit en PS**

Le déficit est transmis par mode autosomique dominant, et représente 10% du total des familles souffrants de thrombophilie héréditaires. Une variante plus sévère est transmise par le mode autosomique récessif. La prévalence du déficit est de 1% à 7% du total des patients consultants pour des accidents thrombotiques. Similairement au déficit en protéine C, le déficit en protéine S multiplie par 7 le risque de survenue de thrombose.

Les signes cliniques causés sont similaires à ceux observés dans les cas de déficits en protéine C et en antithrombine III. Une étude menée sur 71 patients souffrant du déficit, 74%, 72% et 38% des individus ont souffert respectivement de thrombose veineuse profonde, de thrombophlébite superficielle et d'embolie pulmonaire.

Sur la base des taux de protéine S totale, protéine S libre, et de l'activité de la protéine S, 3 types de déficit peuvent être identifiés.

Type	Protéine S totale	Protéine S libre	Activité protéine S
I	Diminué	Diminué	Diminué
II	Normal	Normal	Diminué
III	Normal	Diminué	Diminué

Le déficit de type 1 est associé avec approximativement un taux de protéine S totale égal à 50% de la normale, ainsi qu'une baisse du taux de la protéine S libre ainsi que de l'activité de la protéine S à 40% de la normale. Le type II est caractérisé par des taux de protéine S totale et libre normaux, mais une activité diminuée. Le type III est caractérisé par un taux de protéine S total normal, mais une baisse de la forme libre et de l'activité.

Le taux moyen de protéine S totale chez les adultes sains est de 23 µg / mL, cependant, il existe un chevauchement entre les valeurs normales basses et les valeurs retrouvées chez des

patients hétérozygotes atteints du déficit. De plus les niveaux augmentent avec l'âge et sont plus variables au sein de la population féminine. Les taux de protéine S diminuent chez les patients sous anticoagulants oraux antagonistes de la vitamine K également. Ce qui rend le diagnostic biologique du déficit délicat et difficile sur la base d'une seule analyse biologique, nécessitant la multiplication des tests ainsi que l'exécution d'une recherche familiale.

Le déficit en protéine S peut être acquis et dû à la grossesse, aux contraceptifs oraux, à la nécrose cutanée, au CIVD, au HIV, ainsi que dans les états inflammatoires suite à la hausse des niveaux de la C4b, réduisant le taux de protéine S sous sa forme libre, et donc son activité. Les taux de protéine S totale sont augmentés lors d'un syndrome néphrotique, bien que son activité soit diminuée.

➤ **Résistance à la PCa et FVL**

Le FVL est la cause la plus fréquente de thrombophilie, sa prévalence globale est de l'ordre de 5 %. Il est retrouvé chez environ 20 à 40% des patients ayant fait un accident thromboembolique. Il est dû à une mutation ponctuelle du gène FV aboutissant à un FV muté (FVL) qui se traduit par une substitution de l'arginine. L'arginine étant un des sites d'inactivation du FVa par la PCa, il existe donc un retard à la protéolyse (résistance à la PCa) du FVa et une génération accrue de thrombine. Le risque de développement de thromboses induit par la mutation du gène du facteur V est environ 5 fois plus élevé chez les patients homozygotes que chez les patients hétérozygotes. Le fait que la résistance soit majoritairement due à une mutation du gène du facteur V Leiden rend intéressant le diagnostic de cette affection par PCR.

➤ **Mutation du gène de la prothrombine**

Il s'agit d'une mutation ponctuelle du gène de la prothrombine (G20210A) de transmission autosomique dominante. Le risque thrombotique est triplé chez le porteur hétérozygote. Les sujets porteurs ont une augmentation des taux plasmatiques de FII (+ 30 %) responsable d'une génération accrue de thrombine et d'une hypercoagulabilité. Sa prévalence est de 2% dans la population générale et de 6% chez des sujets ayant un antécédent thrombotique. Les patients atteints de cette mutation ont un risque 2,8 fois plus élevé de développer un accident thrombotique. La mutation du G20210A est détectée par PCR.

➤ Syndrome anti-phospholipides

Les anticorps antiphospholipides sont une famille hétérogène d'anticorps dirigés contre différents phospholipides ou protéines liées aux phospholipides. Ces anticorps comprennent les anticorps anticoagulants lupiques, les anticorps anticardiolipines, les anticorps anti-β₂-glycoprotéine I. Ces anticorps sont fréquemment associés cliniquement à des thromboses artérielles ou veineuses, ainsi que des complications de grossesse. Ils constituent ainsi le syndrome des antiphospholipides, primaire ou secondaire à une maladie de système, le plus souvent le lupus érythémateux disséminé « LED ».

La prévalence chez la population générale est inconnue. Les anticorps antiphospholipides sont retrouvés chez 1 à 5% des personnes jeunes en bonne santé. La prévalence de ces autoanticorps augmente avec l'âge et les maladies chroniques. On retrouve un anticoagulant lupique chez 15 à 30% des patients atteints de lupus et des anticardiolipines chez 17 à 39% d'entre eux. Une étude prospective auprès de 360 patients porteurs asymptomatiques d'anticorps antiphospholipides sur une durée de 3,9 années a prouvé que l'incidence de thromboses est de 2,5% par an. Par ailleurs il a été estimé que 42% des patients atteints de lupus ayant des anticorps antiphospholipides développeront des thromboses sur une période d'observation de vingt ans.

Le diagnostic est évoqué lors de la survenue d'accidents thrombotiques en association avec des anticoagulants lupiques persistants et/ou des taux élevés d'anticorps anti-cardiolipines ou anti-β₂-glycoprotéine.

Au laboratoire, sont trouvés, de manière non spécifique, une augmentation de la vitesse de sédimentation, un syndrome inflammatoire, une thrombopénie.

Un **allongement** du temps du TCA avec temps de Quick normal est évocateur d'un anticoagulant circulant si cet allongement est **corrigé** par l'adjonction de phospholipides en excès, par tests de dilution avec mélanges de sérums.

Le diagnostic de certitude se fait par la présence d'un anticorps antiphospholipide, anticardiolipine ou anti-β₂-glycoprotéine-1, rarement anti-phosphatidyléthanolamine ou anti facteur VIII (IgG ou IgM).

Dans l'ensemble, les traitements sont dirigés contre la formation de thromboses et non pas contre les causes immunologiques sous-jacentes. Le traitement préventif, dont l'intérêt reste à prouver, chez les patients asymptomatiques se base sur l'administration d'aspirine. Chez les patients ayant déjà souffert de thrombose, le traitement se base sur l'administration orale d'anticoagulants à vie, avec une INR maintenue entre 2,6 et 3. La prévention des complications obstétricales se fait par héparine à bas poids en association avec l'aspirine.

➤ Déficit qualitatif en fibrinogène : Dysfibrinogénémie

Dans le cas de la dysfibrinogénémie des variantes structurelles du fibrinogène circulent dans le plasma, résultant de mutations faux sens dans la majorité des cas. La maladie est transmise par le mode autosomique dominant.

La majorité des patients atteints de dysfibrinogénémie (55-60%) sont asymptomatiques, et l'anomalie est identifiée suite aux résultats anormaux des tests de dépistage des troubles de la coagulation, tel que le TP et TCA. Environ 25% et 20% du total des individus ont souffert d'épisodes hémorragiques et thrombotiques respectivement. Etant donné la faible corrélation entre les résultats biologiques et la clinique, une thérapeutique typique est inexistante et doit être individualisée pour chaque patient, si celle-ci est nécessaire.

➤ Hyperhomocystéinémie

L'accumulation d'un acide aminé toxique pour l'endothélium (l'homocystéine) est un facteur de risque de thrombose veineuse. Thrombophilie mixte d'origine constitutionnelle ou acquise. Le déficit constitutionnel en cystathionine bêta synthétase (CBS)¹ aboutit à l'homocystéinurie, transmise selon le mode autosomique récessif. Un faible nombre de cas d'hyperhomocystéinémie sont causés par une anomalie homozygote du gène encodant la 5,10-méthylentetrahydrofolate reductase (MTHFR). La prévalence est estimée à 1 pour 250 000.

¹ La CBS catalyse la trans-sulfuration dans la réaction suivante : L-serine + L-homocystéine $\rightleftharpoons$ L-cystathionine + H₂O

Les causes les plus communes de l'affection acquise sont les déficits en vitamines B12, B9 et B6 (cofacteurs) et l'insuffisance rénale. Le seuil pathologique de l'homocystéine dans le sang est de 15 $\mu\text{mol/l}$. Un schéma simplifié illustrant le métabolisme de l'homocystéine est proposé dans **l'annexe 8**.

➤ **La grossesse**

Durant la grossesse le risque de survenue de thromboembolisme veineux est multiplié par 6. Le risque est encore plus élevé en période post-partum. Parmi les facteurs de risque on distingue l'âge, la délivrance par césarienne, l'immobilité prolongée, l'obésité ainsi que les antécédents thromboemboliques veineux. Les niveaux de la majorité des facteurs procoagulants sont augmentés pendant la grossesse, avec une augmentation notable du fibrinogène de 250 à 400 mg/dL à 600 mg/dL en fin de grossesse. Parmi les inhibiteurs physiologiques, on assiste à une baisse significative des niveaux de protéine S au second trimestre. En parallèle, l'activité du système fibrinolytique baisse progressivement au cours de la grossesse. A terme, une thrombocytopénie modérée est observée chez 8.3% de femmes saines, probablement due à une augmentation de la consommation plaquettaire. L'effet résultant de ces modifications hémostatiques est d'assurer une coagulation optimale au moment du décollement placentaire. Le niveau des protéines retourne à la normale dans les 4 semaines suivant la délivrance. L'activité fibrinolytique quant à elle retourne à la normale dans les heures suivant la délivrance.

➤ **Les contraceptifs oraux**

Les contraceptifs oraux sont associés à une augmentation du risque de thrombose veineuse et artérielle qui est proportionnelle à la dose d'œstrogène administrée. Le mécanisme par lequel les contraceptifs oraux sont pro-thrombotiques est complexe et incertain. Les contraceptifs oraux œstroprogestatifs dits de 3ème génération (contenant les nouveaux progestatifs tels que le désogestrel, le gestodène ou le norgestimate) exposent les femmes à un risque thromboembolique plus élevé que les contraceptifs œstroprogestatifs dits de 1ère ou de 2ème génération.

On assiste à une légère augmentation des protéines procoagulantes (facteur VII, facteur VIII, facteur X, prothrombine, fibrinogène) ainsi qu'une baisse des niveaux des protéines anticoagulantes (protéine S, antithrombine III).

➤ **Syndrome néphrotique**

La thrombose de la veine rénale est une complication d'un syndrome néphrotique. Le mécanisme incriminé est sans doute la fuite de l'AT.

➤ **Etats post-opératoires**

L'état post-opératoire s'accompagne d'une augmentation de l'incidence des thromboembolismes veineux et pulmonaires. L'augmentation du risque est relative au type d'opération. Chez les patients âgés de plus de 40 ans, ne recevant pas de traitement thromboprophylactique, l'incidence des thromboembolismes veineux profonds suite à une chirurgie générale ou gynécologique est approximativement de 20 à 25%, les thromboembolismes pulmonaires cliniquement significatifs chez la même population est de 1 à 2%. Chez les patients ayant subi une opération urologique l'incidence des thromboembolismes veineux varie de 10% pour les procédures transurétrales, à 40% pour les prostatectomies radicales. Le risque de développement de complication thrombotiques persiste plusieurs semaines après l'opération.

➤ **Traumatismes**

Les traumatismes majeurs sont souvent suivis de thromboses veineuses ou pulmonaires. L'embolisme pulmonaire survient chez 2 à 22% des patients, et est la 3ème cause de mortalité chez les traumatisés ayant survécu plus de 24 heures. Le mécanisme moléculaire à l'origine des thromboses faisait suite aux traumatismes ou aux opérations chirurgicales n'a pas été bien élucidé jusqu'à présent. Les pistes les plus probables sont l'exposition du facteur tissulaire par les tissus lésés ainsi que par les monocytes activés. L'absence de mouvement peut être un facteur précipitant la formation de thromboses chez les sujets prédisposés.

➤ Syndromes myéloprolifératifs

L'incidence des accidents thromboemboliques augmentent avec lors des maladies malignes résultant à la fois d'une hyperviscosité du sang avec hyperactivation plaquettaire et augmentation entre autres protéines du fibrinogène. Le mécanisme incriminé est la libération de substances procoagulantes par la tumeur elle-même.

➤ Hémoglobinurie paroxystique nocturne

L'hémoglobinurie paroxystique nocturne est une maladie de la cellule souche hématopoïétique de nature clonale. Elle est causée par une mutation dans le gène PIG-A, impliqué dans la synthèse de Phosphatidyl-Inositol Glycane (PIG), qui est nécessaire ainsi que son dérivé le GIP à l'encrage des protéines des membranes des cellules sanguines en particulier la Protectine (CD 59) et la Decay Accelerating Factor (CD 55) (DAF). Le CD55 et CD59 sont présent à la surface des hématies et monocytes et inhibent la constitution du complexe d'attaque membranaire du complément. L'absence de ces deux protéines cause un défaut de protection des hématies contre le complément et s'en suit une lyse de ces dernières particulièrement pendant la nuit.

La fréquence des thromboses se situe à environ 30% chez les patients atteints d'HPN.

Le mécanisme par lequel l'HPN est associée aux thromboses n'est pas encore bien connu. Les pistes les plus probables sont celles :

- De l'accumulation de l'hémoglobine libre qui entraîne l'activation des cellules endothéliales, l'activation plaquettaire et, possiblement, l'inhibition de l'activité de l'enzyme ADAMTS13, responsable de la clairance des grands multimères du facteur de von Willebrand.
- Du déficit en oxyde nitrique qui est causé indirectement par la lyse intravasculaire des hématies, ce qui entraîne des effets d'activation endothéliale, de vasoconstriction, d'inflammation et de génération de thrombine.
- De l'action directe du complément : Le déficit en protéines GPI-dépendantes, surtout le CD59, à la membrane cellulaire des plaquettes, des monocytes et des cellules endothéliales est aussi responsable d'une activation directe par le complément

entraînant l'exposition membranaire du facteur tissulaire et donc la génération de thrombine.

➤ **Augmentation des facteurs de coagulation**

L'augmentation du taux de certains facteurs de coagulation plasmatique, en particulier les facteurs : XI, VIII, IX et VII peut augmenter les taux de thrombine engendrant une augmentation du risque thromboembolique.

➤ **Hyperlipidémie**

Coagulopathie de consommation : Coagulation intra-vasculaire disséminée (CIVD)

La CIVD est un syndrome acquis d'activation **pathologique** de la coagulation avec consommation excessive de plaquettes et de facteurs de la coagulation. (Trossaër & Guillet)

➤ Physiopathologie

Le processus physiopathologique de la CIVD comprend plusieurs étapes intriquées et possiblement simultanées : génération de la thrombine par le facteur tissulaire, formation exagérée de fibrine, défaillance des systèmes inhibiteurs de la coagulation ainsi que le dysfonctionnement du système de la fibrinolyse.

- Génération de la thrombine : La génération de la thrombine est induite par la voie du facteur tissulaire qui résulte potentiellement de la réponse aux stimuli inflammatoires induisant la synthèse et l'expression du FT par les cellules au contact du sang, d'une effraction vasculaire et l'exhibition du FT constitutifs des éléments du sous endothélium, ainsi que du FT exprimé à la surface de cellules cancéreuses.
- Dysfonctionnement des systèmes inhibiteurs de la coagulation : Les taux de l'AT sont régulièrement effondrés en cas de CIVD à cause de sa consommation accrue, sa dégradation par les élastases leucocytaires ainsi que la baisse de sa synthèse hépatique. Par ailleurs, l'atteinte endothéliale, avec une diminution de la thrombomoduline par les cytokines pro-inflammatoires (TNFalpha et IL1b), contribue au dysfonctionnement du système PC-PS.
- Présence accrue de thrombine dans le sang : La thrombine alors libre et non inhibée amplifie sa propre génération et circule à des taux croissants dans le sang. La thrombine agit sur son substrat et génère la fibrine, elle active également les plaquettes et les autres facteurs de la coagulation résultant en une dissémination de la coagulation dans le compartiment vasculaire.
- Défaillance de la fibrinolyse : Il est suggéré que lors de cette activation massive de la coagulation, le système fibrinolytique activé par le tPA d'origine endothélial était très rapidement inhibé par des taux élevés de PAI-1, avec des diminutions des taux du complexe alpha2 antiplasmine-plasmine. L'augmentation des taux de PAI-1 est due à

son relargage par les cellules endothéliales et les plaquettes activées. La thrombine générée inactive également l'uPA (single chain urokinase-type plasminogen activator).

➤ **Clinique**

Les troubles de l'hémostase liés à la CIVD peuvent se manifester par un grand éventail de signes cliniques allant de l'hémorragie à la thrombose.

La symptomatologie dépend de la pathologie sous-jacente. Les syndromes hémorragiques graves constituent une des complications majeures de la CIVD. Les patients présentent des ecchymoses étendues ou aux points de ponction veineuse, avec des pétéchies cutanées. Les dépôts successifs de fibrine entraînent des microthromboses diffuses dans divers tissus et aboutissent à des défaillances d'organes.

Les défaillances multiples d'organes sont surtout dues aux CIVD aiguës avec décompensation brutale des moyens hémostatiques dont l'exemple le plus impressionnant est le purpura fulminans secondaire à la septicémie au méningocoque.

Des cas de CIVD chronique plus ou moins compensée avec libération localisée de fibrine ont été décrits, liés à certaines tumeurs, hémangiomes géants ainsi qu'à la rétention de fœtus morts. Les autopsies réalisées chez les patients souffrant de CIVD chroniques ont révélé une atteinte hémorragique diffuse avec nécrose hémorragique de différents tissus ainsi que des thromboses touchant les différents vaisseaux.

➤ **Etiologies**

La CIVD n'est jamais primitive, et les causes à son origine sont nombreuses :

- Infections sévères et sepsis
- Cancers
- Pathologies obstétricales
- Dommages tissulaires
- Atteinte vasculaire
- Troubles de la régulation thermique
- Allergie
- Hémolyse ou causes toxiques

➤ **Diagnostic biologique**

Le diagnostic biologique positif d'une CIVD montre :

- une thrombopénie modérée ou sévère :

Le nombre de plaquettes est <50 g/l dans la moitié des cas. Il s'agit d'une thrombopénie de consommation due à l'activation accrue de la coagulation. La thrombopénie peut être d'origine centrale au cours des leucémies. Une thrombocytose antérieure à la CIVD peut maintenir le taux des plaquettes à une valeur normale.

- Allongement TQ, TCA, TT.

- Diminution du taux de fibrinogène

- une baisse des facteurs activateurs de la coagulation et en particulier du FV.

- l'AT, les protéines C et S peuvent être abaissées;

- la présence de complexes solubles. Un résultat négatif n'exclue pas la CIVD surtout en cas de taux très abaissés en fibrinogène.

- la présence de produits de dégradation de la fibrine et en particulier D-Dimères.

- les signes d'hyperfibrinolyse : le temps de lyse des euglobulines est modérément raccourci, avec une baisse du plasminogène, de l' α_2 -AP. (Samama, M, & al, 2009)

Un sous-comité scientifique de l'ISTH « International Society for thrombosis and haemostasis » a proposé en 2001 d'établir un algorithme de diagnostic aboutissant à un score de probabilité de CIVD grâce aux résultats des tests courants d'exploration de l'hémostase. (Voir annexe 9)

➤ Traitement

La base fondamentale du traitement de la CIVD est le traitement étiologique, précoce et efficace. Par la suite un traitement de substitution pour pallier aux déficits est envisagé. Ainsi, la thrombopénie et les déficits en facteurs de la coagulation, exposant les patients à des risques hémorragiques accrus sont traités par transfusion d'unités plaquettaires et de plasma frais congelé. Le traitement anticoagulant, par héparinothérapie à faible dose est préconisé chez les patients souffrant de CIVD associé à anévrismes ou des malformations angiomeuses importantes.

PARTIE 03

CONDUITE A TENIR LORS DE L'EXPLORATION BIOLOGIQUE DES TROUBLES DE L'HEMOSTASE

1- TQ et TCA normaux

TCA et TQ normaux avec
saignements anormaux

Rechercher les
anomalies de
► l'hémostase primaire:
Thrombopathies et
maladie de Willebrand

Possibilité de:
- déficit ou anomalie en alpha2-antiplasmine
► - déficit ou anomalie en alpha1-antitrypsine
- déficit ou inhibiteur du facteur XII
- déficit ou anomalie en PAI



Possibilité d'anomalies d'origine vasculaire

2- TQ allongé et TCA normal

TQ allongé et TCA normal

▶ Test du mélange avec plasma témoin: correction?

- Anticorps anti-facteur VII

+

Déficit isolé en facteur VII
Dosage du facteur VII

3- CA allongé et TQ normal

TCA allongé et TQ normal

► Temps de thrombine

Allongé

► Interférence avec un anticoagulant ex l'heparine

Normal

▼
Test du melange avec un plasma temoin, correction du TCA?

+

IR > 12%

► Présence de saignements

-

► Déficit isolé en KHPM, PK FXI

► Maladie de Willebrand de type 2N/3

+

- IR < 15%

▼

► Facteur VIII diminué

En fonction de la clinique de l'enquête familiale, du dosage FvW.RCo

► Hemophilie A

Ajout de phospholipides

► Facteur IX diminuée

► Hemophilie B

▼

TT corrigé?

► Facteur XI diminuée

► Déficit isolé en facteur XI

+

-

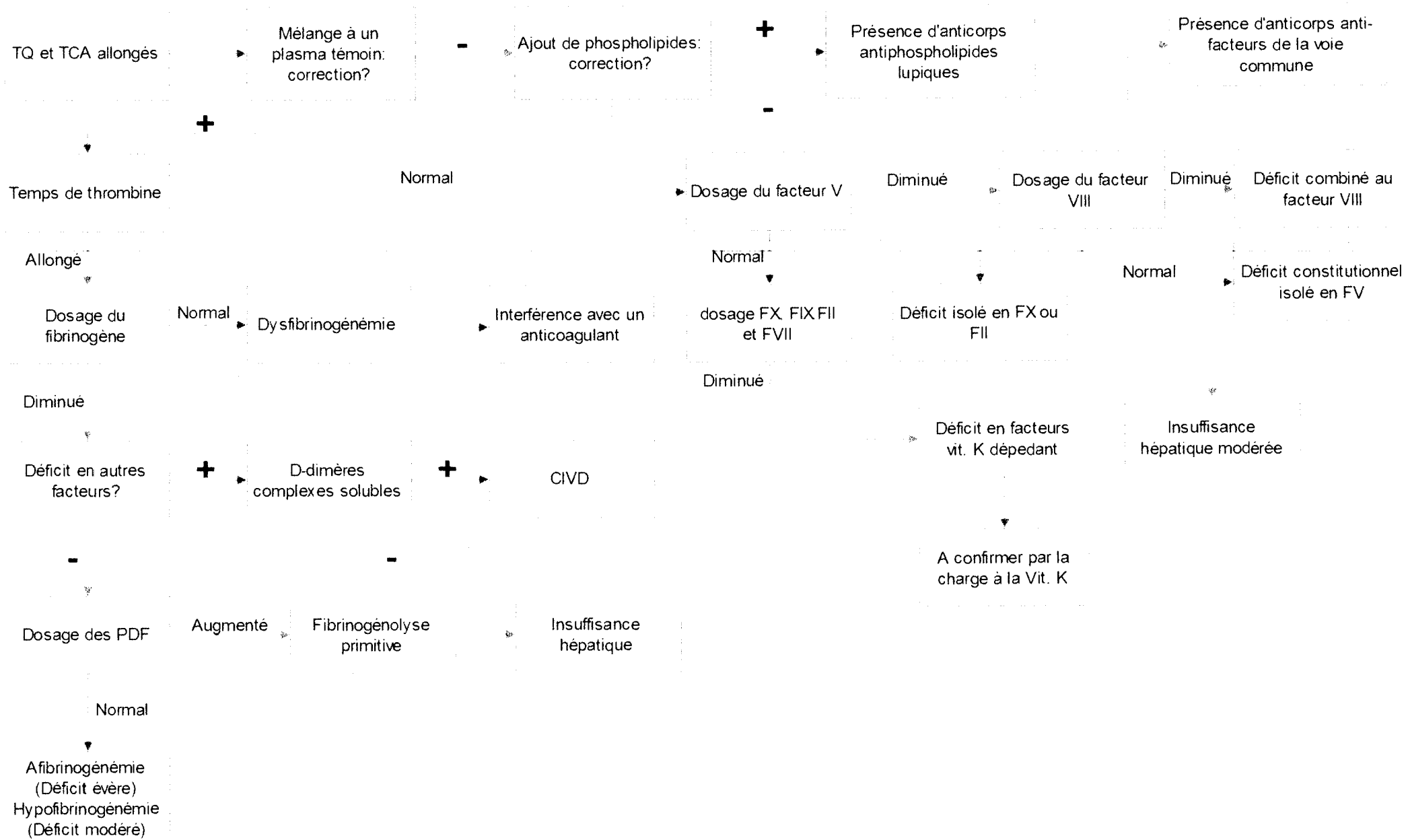
▼

Présence d'anticorps antiphospholipides

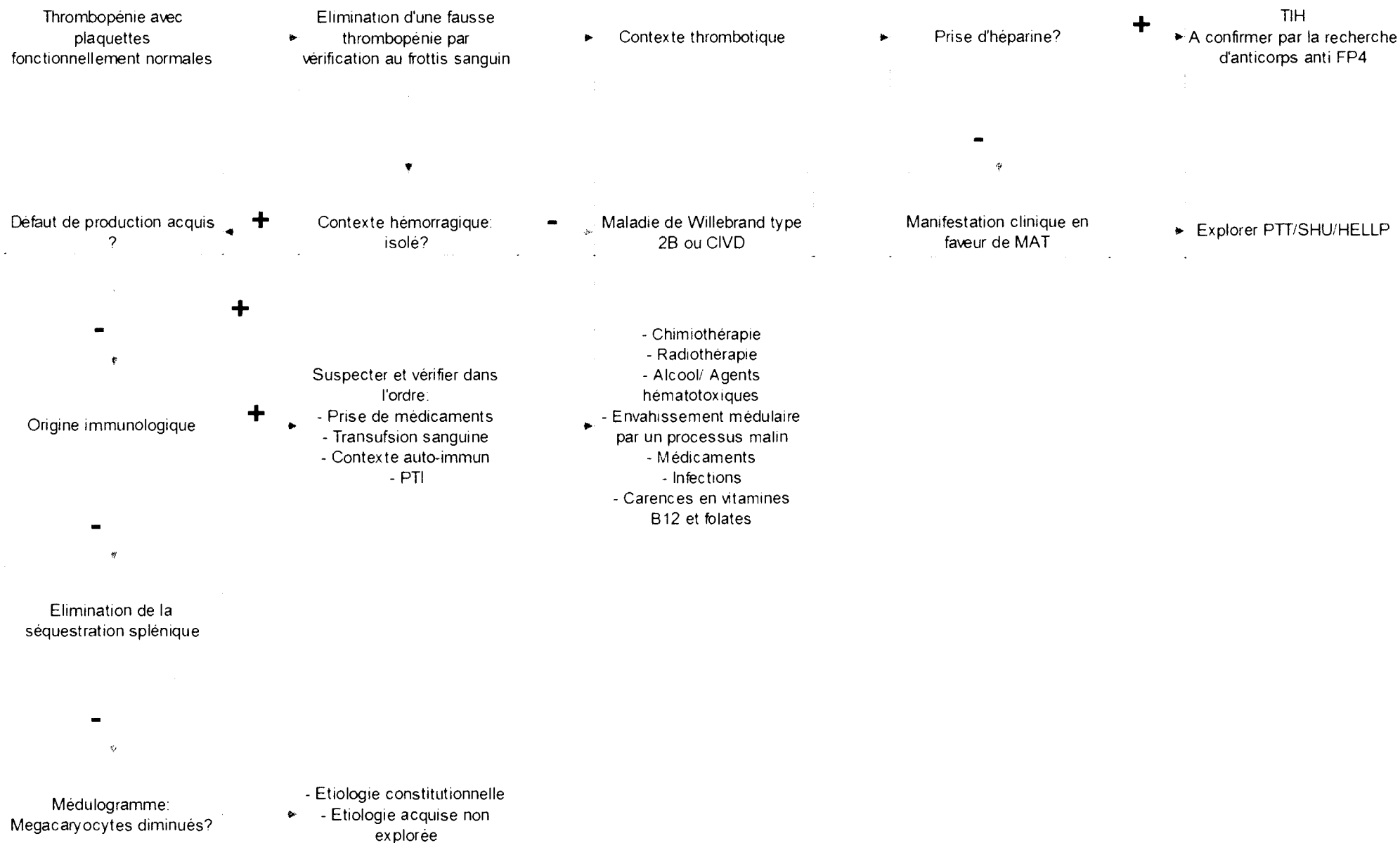
► Anticorps dirigé contre facteur de la voie endogène

Titration de l'anticorps par
► méthode de Bethesda selon le facteur déficitaire

4- TQ et TCA allongés



5- Diagnostic étiologique des thrombopénies



6- Diagnostic étiologique d'une thrombopathie

Suspicion de thrombopathie
Existence de saignement avec
TCA et TQ normaux

► Confirmer l'inexistence d'une
maladie de Willebrand

► Existence de causes de
thrombopathie acquise

+

► Traitement de la cause

En fonction du profil
agrégométrique obtenu: orientation
vers une pathologie spécifique

+

► Agrégation normale en intensité
avec l'ADP, l'épinéphrine et le
collagène.
► Agrégation anormale avec la
ristocétine

► L'agrégation à la ristocétine rendue
normale par le mélange en
présence d'un plasma sain

-
► - Au frottis sanguin: plaquettes de
taille géante
- Expression du GP Ib membranaire
diminuée

► Maladie de Bernard Soulier
confirmée

► Agrégation quasi-inexistante à tous
les agonistes

► Très probablement: Maladie de
Glanzmann, confirmée avec
certitude par la recherche de GP
IIb-IIIa membranaire

-
► Au frottis: présence de plaquettes
de taille augmentée, grises à la
coloration de Wright

► Syndrome des plaquettes grises
(déficit en granules alpha)

► Agrégation plaquettaire limitée en
cinétique et en intensité à la
première vague d'agrégation

► Ratio ATP/ADP ≥ 3

-
+
► Déficit en granules denses (maladie
du pool vide)

► Agrégation à l'acide arachidonique

► Déficit en cyclo-oxygénase

7- Diagnostic de la maladie de Willebrand

Suspicion de la maladie de Willebrand

- Clinique évocatrice
- Screening tests normaux généralement

Tests initiaux de dépistage

- FvW Ag
- FvW RCo
- FVIII c

Au moins une anomalie

Autre diagnostic

+

Etiologie constitutionnelle
Diagnostic de certitude : Séquençage de l'ADN à la recherche de mutations

Etiologie acquise

- Rechercher pathologie sous-jacente
- Absence d'antécédents familiaux
- Recherche d'auto-anticorps : soit par le mélange des plasmas avec absence de correction du FvW RCo, soit par ELISA spécialisée

FVIII FvW < 0.5

FvW FVIII B

Bas

Maladie de Willebrand de type 2N

Normal

FvW ag absent, Activité FvW RCo absente

Maladie de Willebrand de type 3

Hémophilie A

Maladie de Willebrand de type 2B

FvW RCo FvW Ag

> 0.6

Maladie de Willebrand de type 1 avec

- FvW = 10-50%
- Présence de multimers du FvW
- Plaquettes normales

Pseudo maladie de Willebrand

Maladie de Willebrand de type 2A

< 0.6

Normal

Test RIPA positif

+

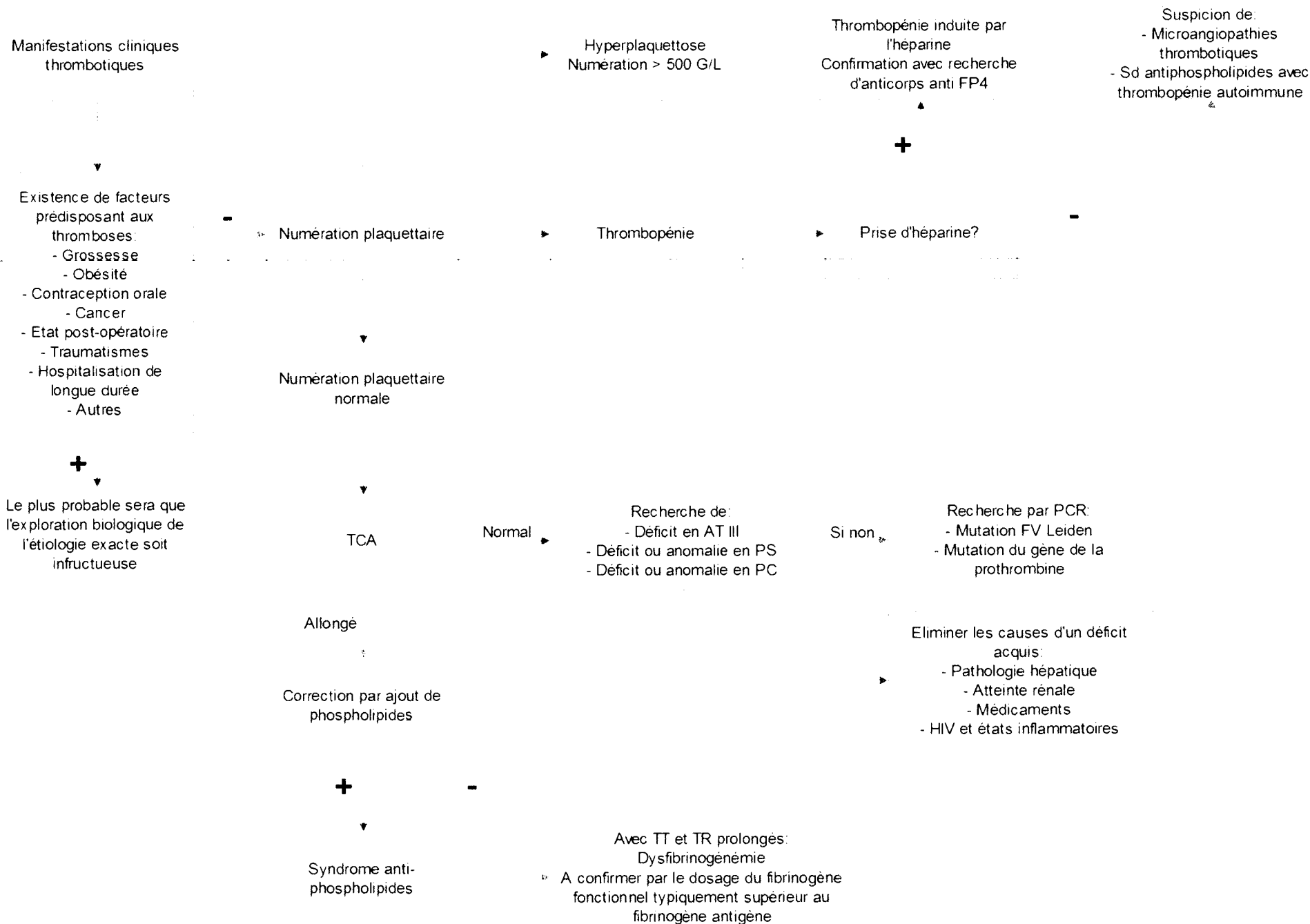
FvW PB

Eleve

Maladie de Willebrand de type 2B

Présence des multimers

8- Diagnostic étiologique des thromboses



Conclusion

L'hémostase est l'ensemble des processus physiologiques ayant pour finalité le maintien des constituants sanguins dans le compartiment vasculaire. De par sa complexité et de la pluralité des éléments qui y interviennent, les atteintes et anomalies qui la concernent résultent en un groupe de pathologies tantôt plus ou moins homogènes concernant leurs manifestations cliniques, tantôt hétérogènes lorsqu'il s'agit du diagnostic biologique exact de l'affection en question.

Les coagulopathies peuvent ainsi être classifiées en catégories, selon leur origine, constitutionnelle ou acquise, et selon la nature du trouble à l'échelle moléculaire qui en est initialement la cause.

Le diagnostic d'un trouble de l'hémostase débute par l'anamnèse qui comporte les informations relatives au patient qui aident à orienter à la détermination de l'étiologie acquise ou constitutionnelle.

L'examen clinique est également un bon critère diagnostique. Il s'en suit l'exploration biologique qui doit se faire dans le respect des conditions préanalytiques et analytiques.

L'exploration biologique repose d'abord sur les screening tests qui visent à orienter le diagnostic vers telle ou telle pathologie de l'hémostase, puis, sur des tests spécifiques dont le but est d'établir le diagnostic de certitude de la coagulopathie suspectée. Cette méthodologie est à intérêts multiples : l'obtention de résultats médicalement significatifs dans un laps de temps aussi réduit que possible en premier lieu et la réduction des coûts en second lieu.

Il conviendrait également d'insister sur le fait, qu'aujourd'hui encore, la mise en place et l'utilisation, en Algérie, des tests dits spécifiques reste marginale et rare, malgré l'importance capitale qui leur est reconnue, et qui pourrait par ailleurs être mise davantage en exergue dans les études à venir.

Liste des annexes

Annexe 1 : Fiche de renseignement	134
Annexe 2 : Taux normaux d'activité des facteurs de la coagulation.....	135
Annexe 3 : Critères d'imputabilité des médicaments dans les thrombopénies d'origine immuno allergiques	137
Annexe 4 : Profils d'agrégation par l'ADP des plaquettes normales, syndrome de Bernard soulier, thrombasthénie de glanzmann, maladie du pool vide ainsi que des patients traités par l'aspirine	138
Annexe 5 : Circonstances d'apparition d'anticorps anti facteurs.....	139
Annexe 6 : Titrage de l'anticorps anti-facteur par technique de Bethesda	140
Annexe 7 : Essai des multimères de FvW par électrophorèse sur gel d'agarose	141
Annexe 8 : schéma illustrant le métabolisme de l'homocystéine	142
Annexe 9 : Algorithme diagnostique de la CIVD publié par ISTH et son interprétation	143

Fiche de renseignements

Numéro du prélèvement : Date du prélèvement :/...../.....

Nom : Prénom : Age : ans.

Sexe : masculin ☐ féminin ☐

Traitements médicamenteux en cours

Nom du ou des médicaments en cours :

Posologie :

Durée de la prise médicamenteuse :

Renseignements cliniques et antécédents

S'agit-il d'un bilan pré-opératoire ? oui ☐ non ☐

Grossesse oui ☐ non ☐

Insuffisance hépatique oui ☐ non ☐

Insuffisance rénale oui ☐ non ☐

Antécédents médicaux généraux:

Maladie intercurrente connue :

Contexte hémorragique/thrombotique

Accident hémorragique ☐ accident thrombotique ☐

Antécédents personnels :

Circonstances de découverte:

Fréquence :

Accident isolé ☐ accident récidivant ☐

Age lors du premier épisode:

Antécédents familiaux :

.....

.....

Annexe 2 : Taux normaux d'activité des facteurs de la coagulation

Facteurs	Taux d'activité normal (physiologique)
FI	2 à 4g/l Diminue chez le jeune enfant et augmente progressivement en cas de grossesse
FII	Adulte, enfant : 70-150% NN : 10-70% Femme enceinte : 70-200%
FV	Adulte, enfant : 70-140% Nouveau né : 40-120% Femme enceinte : 84-336%
FVII	Adulte, enfant : 70-120% Nouveau né : 25-105% Femme enceinte : 84-336%
FVIII	
FIX	Adulte, enfant : 70-120% Nouveau né : 20-80% Femme enceinte : diminution de 10 à 30% par rapport à la valeur normale
FX	Adulte, enfant : 70-150% Nouveau né : 10-70% Femme enceinte 70-200%

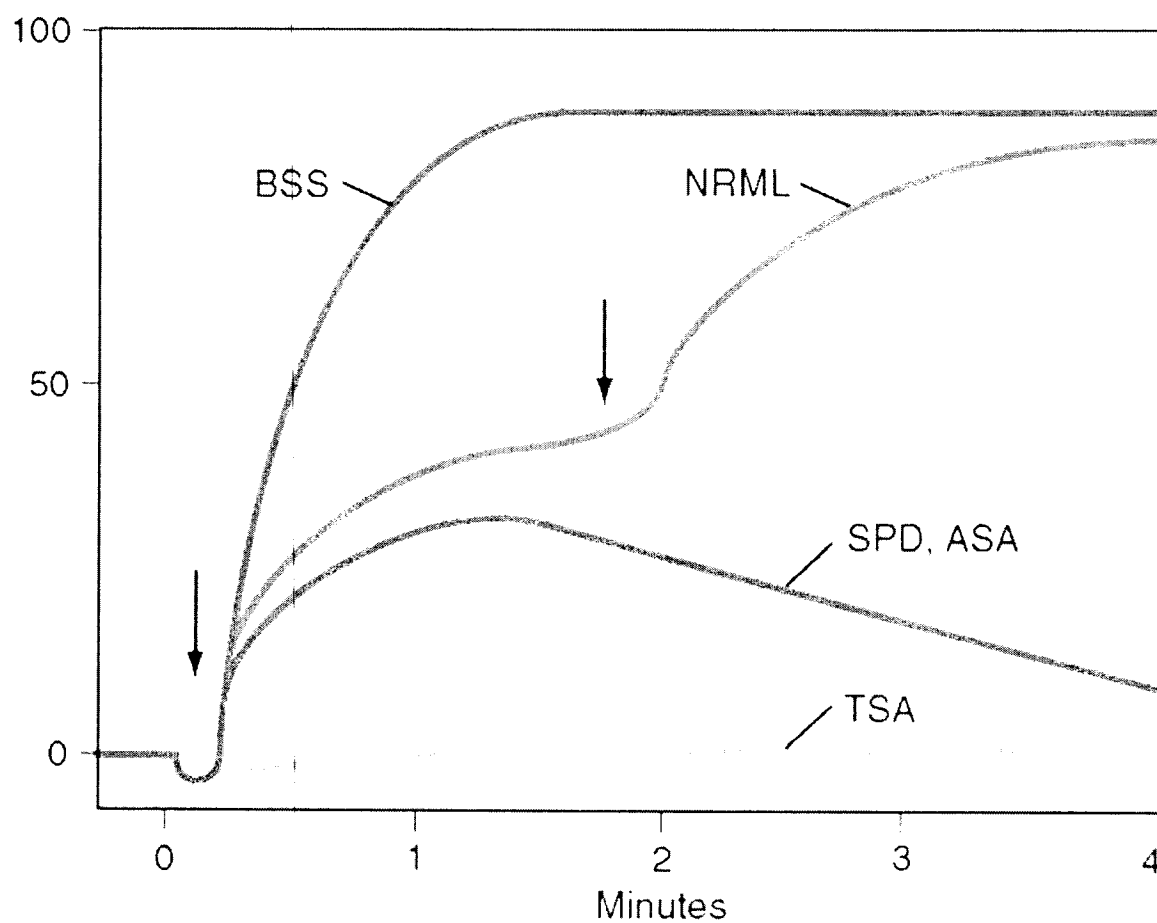
F XI	Adulte, enfant : 70-120% Nouveau né : 20-70% Femme enceinte : diminution de 10 à 30% par rapport à la valeur normale
F XII	Enfant et adulte : 52-160% Nouveau né : 22-70%
FXIII	Adulte, enfant : 50-140% Nouveau Né : 30-100% Femme enceinte: 30-70%
PK	60-140%

Annexe 3 : Critères d'imputabilité des médicaments dans les thrombopénies d'origine immuno allergiques

Critère 1	Oui ☐ Non ☐
Le traitement avec la molécule candidate précède l'apparition de la thrombopénie.	
Critère 2	Oui ☐ Non ☐
Récupération de la thrombopénie complète et stabilité après arrêt de la molécule candidate.	
Critère 2 bis	Oui ☐ Non ☐
La molécule candidate était la seule molécule utilisée avant le développement de la thrombopénie ou d'autres molécules ont été continuées ou réintroduites après arrêt du traitement avec la molécule coupable sans affectation du chiffre plaquettaire resté normal.	
Critère 3	Oui ☐ Non ☐
Les autres causes de thrombopénie ont été exclues	
Critère 4	Oui ☐ Non ☐
Une réexposition à la molécule candidate induit une récurrence de la thrombopénie.	
Niveaux d'imputabilité	
Niveau d'imputabilité I : certain	Présence des critères 1, 2, 3 et 4
Niveau d'imputabilité II : probable	Présence des critères 1, 2 et 3
Niveau d'imputabilité III : possible	Présence du critère 1
Niveau d'imputabilité IV : peu probable	Absence du critère 1

Référence : (Megarbane, Drouet, & ElAlamy, 2013)

Annexe 4 : Profils d'agrégation par l'ADP des plaquettes normales, syndrome de Bernard soulier, thrombasthénie de glanzmann, maladie du pool vide ainsi que des patients traités par l'aspirine



Source de l'image : (Bennett, 2008)

Annexe 5 : Circonstances d'apparition d'anticorps anti facteurs

Circonstances d'apparition		Clinique
Anti-VIII	- Au cours de l'hémophilie A : 10 à 30 % des patients traités - Post-partum (transitoire), patients âgés (souvent durable), maladie auto-immune, au cours de traitements par ampicilline, phénylbutazone	<i>Syndrome hémorragique grave, entraînant le décès dans 20 à 25 % des cas</i>
Anti-IX	- Au cours de l'hémophilie B traitée - Post-partum (transitoire), maladie auto-immune, infection - Disparition spontanée en moins de 6 mois	<i>Syndrome hémorragique</i>
Anti-XI	- Rares, décrits au cours du lupus érythémateux (évolution de l'anticorps parallèle à celle de la maladie)	<i>Syndrome hémorragique</i>
Anti-X ou anti-XII	- Exceptionnels	<i>Non hémorragiques</i>
Anti-II	- Isolé ou associé à un Anticoagulant lupique, souvent au cours d'une infection virale chez l'enfant - Transitoire et non neutralisant	<i>Syndrome hémorragique variable, fonction du taux de facteur II</i>
Anti-V	- Au cours de traitements antibiotiques (gentamicine) ou par colles hémostatiques - Le plus souvent transitoire; disparition spontanée	<i>Syndrome hémorragique variable</i>
Anti-VII	- Très rares, au cours de cancers	<i>Syndrome hémorragique grave</i>
Anti-XIII	- Rares, au cours de traitements par isoniazide, pénicilline	<i>Syndrome hémorragique grave</i>
Anti-fibrinogène	- Très rares	
Anti-facteur Willebrand	- Au cours de diverses affections (maladies immunologiques, hématologiques); évolution de l'anticorps parallèle à celle de la pathologie sous-jacente	<i>Syndrome hémorragique cutanéomuqueux</i>

Référence : Biomnis : Précis de biopathologie analyses médicales spécialisée

Titrage de l'anticorps

Technique : exemple d'un anti-facteur VIII

L'inhibiteur peut être approximativement quantifié en recherchant la dilution du plasma du patient qui inhibe 50 % du plasma témoin.

- Le plasma à tester doit être chauffé à 56 ° C pendant 30 minutes afin de détruire le facteur VIII résiduel et libérer l'anticorps du complexe VIII-anti VIII.
- Un volume de plasma à tester pur ou dilué dans du sérum physiologique (1/2, 1/4, 1/8, 1/16...) est mélangé à un volume de plasma témoin.
- Un volume de plasma témoin est mélangé à un volume de sérum physiologique.
- Les différents mélanges sont incubés à 37 ° C pendant 2 heures.
- Le facteur VIII est dosé dans les différents mélanges de plasma à tester (à différentes dilutions) + plasma témoin. Le taux de facteur VIII obtenu est noté R2.
- Le facteur VIII est dosé dans le mélange Témoin + sérum physiologique, après incubation, dans les mêmes conditions que le plasma à tester. Le taux de facteur VIII obtenu après incubation est noté R1
- L'activité résiduelle du facteur VIII est obtenue par le rapport $R2/R1 \times 100$.

Pour le titrage, il convient de choisir la dilution de plasma à tester qui donne un taux de facteur VIII résiduel voisin de 50 %. Puis, il suffit de lire la correspondance en unités Bethesda / ml, sur une courbe établie avec, en ordonnée, le pourcentage

d'activité résiduelle de facteur VIII (échelle logarithmique) et en abscisse, les unités Bethesda / ml (échelle linéaire), en sachant que 50 % de facteur VIII résiduel correspond à une unité Bethesda / ml.

Dosage des facteurs de la coagulation explorés par le test de la coagulation allongé, corrigé par l'ajout de plasma témoin

Ce dosage doit être effectué sur plusieurs dilutions successives de plasma (1/10, 1/20, 1/40, 1/80). En présence d'un anti-facteur, l'activité du facteur contre lequel est dirigé l'anticorps est diminuée et cette diminution persiste avec la dilution. L'activité des autres facteurs peut également être diminuée aux faibles dilutions (interférence de l'anti-facteur), mais cette diminution ne persiste pas en poussant les dilutions (les taux des autres facteurs sont normaux).

Titrage de l'anticorps : expression et interprétation des résultats

Le résultat est exprimé en unité Bethesda, une unité étant définie par la quantité d'anticorps contenue dans 1 ml de plasma, capable de neutraliser 50 % de l'activité d'un plasma normal.

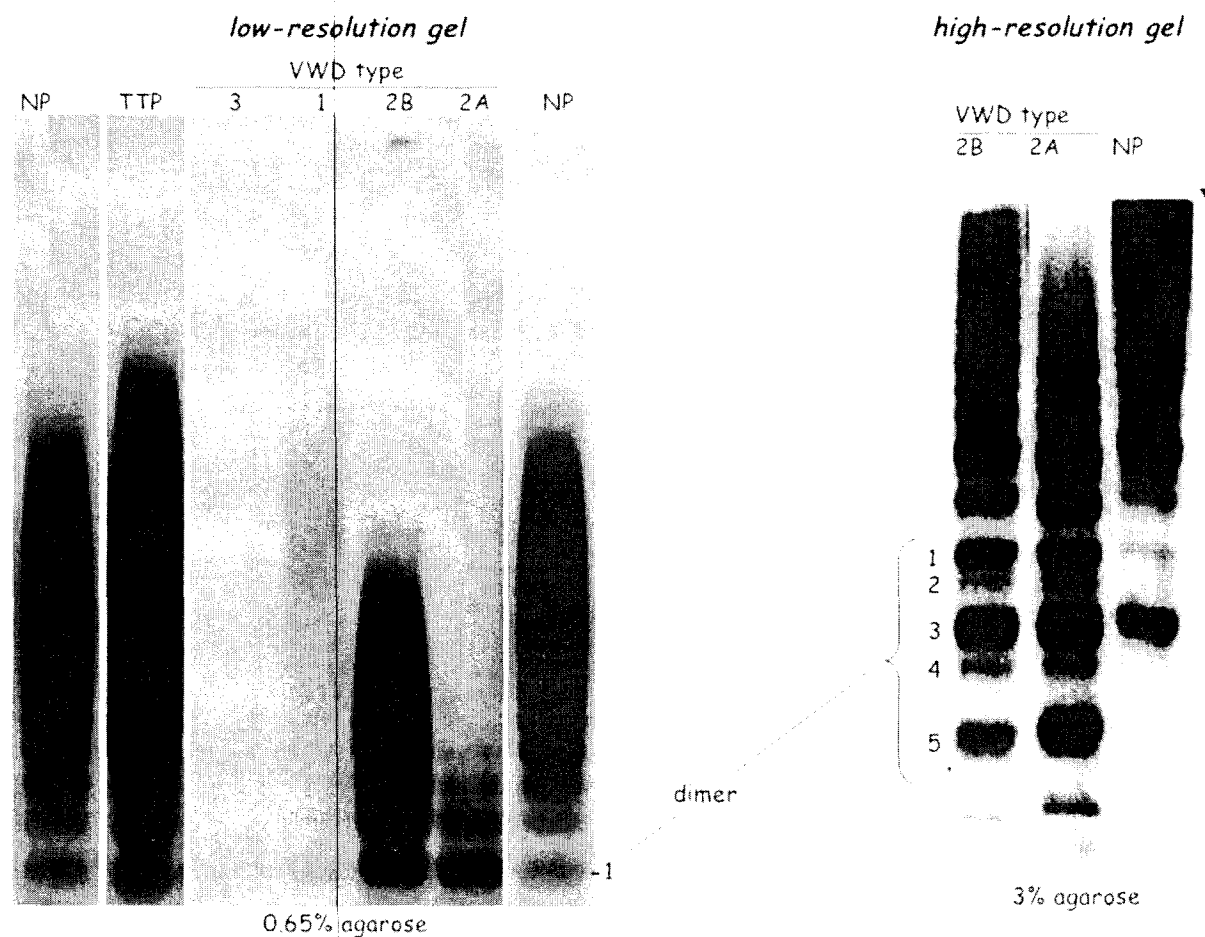
< 5 unités Bethesda (UB) : anti-facteur à taux faible.

5 – 10 UB : anti-facteur à taux modéré.

> 10 UB : anti-facteur à taux fort.

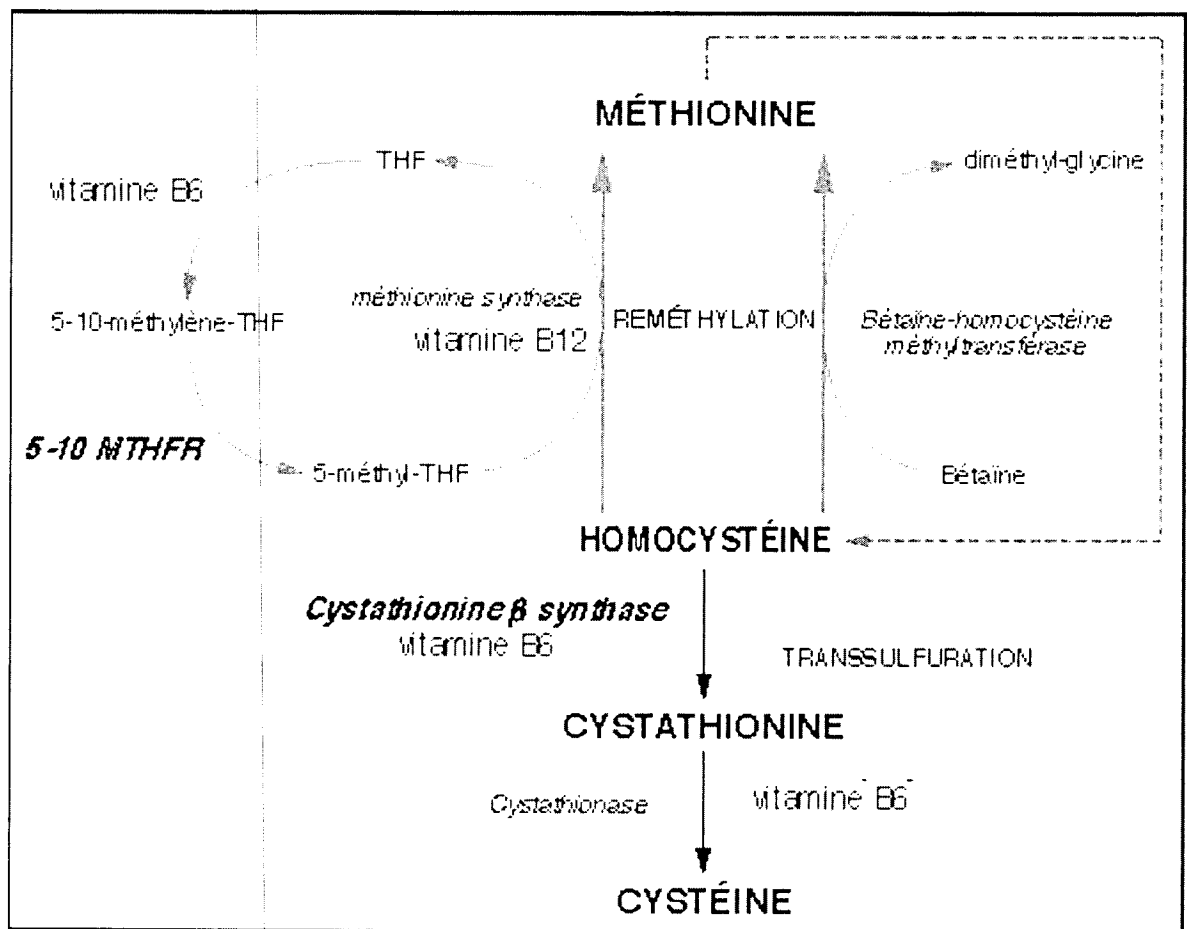
Référence : Biomnis : précis de biopathologie analyses médicales spécialisées (2012)

Annexe 7 : Essai des multimères de FvW par électrophorèse sur gel d'agarose



Source de l'image : (National heart lung and blood institute, 2007)

On aperçoit à droite la séparation électrophorétique haute résolution (3% d'agarose) en bandes étroites. A gauche, la séparation électrophorétique basse résolution (0.65% d'agarose) en bandes larges. On arrive à distinguer le type 2A ou manque la bande large et intermédiaire des multimères alors que seule la bande large dans le type 2B. On constate qu'il n'ya pas de multimère dans le type 3 ou le déficit en FvW est complet.



Source de l'image : (Gaussem, P, V, & M, 1998)

- **Etablissement du score**

1- Evaluer le risque de CIVD :

Le patient a-t-il une pathologie susceptible d'être associée à une CIVD ?

- *Si oui : établir le score clinique à l'aide de cet algorithme ;*
- *Si non : ne pas utiliser cet algorithme*

2- Déterminer le score relatif au résultat de chaque paramètre de coagulation

– le nombre de plaquettes :

- < 50 G/l : 2 points

- < 100 G/l : 1 point

- > 100 G/l : 0 point

– l'allongement du TQ

- > 6 s : 2 points

- > 3 et < 6 s : 1 point

- < 3 s : 0 point

– le taux de fibrinogène :

- < 1 g/l : 1 point,

- > 1 g/l : 0 point

– les complexes solubles, les monomères de fibrine ou les produits de dégradation de la fibrine :

- modérément élevés : 1 point,

- franchement augmentés : 2 points.

3- Interprétation et analyse du score final

Le diagnostic de CIVD est retenu si le score total est ≥ 5 et il est recommandé de répéter ce score quotidiennement.

Si le score est < 5 la CIVD est peu probable, mais une surveillance biologique peut être nécessaire.

Références bibliographiques

- Aly, K., & John M., H. (2008). *Hematology Basic Principles and practice, Chapitre 117*. Elsevier.
- Bennett, J. (2008). *Basic principles and practice*. Elsevier.
- (2011). *BIOLOGIE DES ANOMALIES DE L'HÉMOSTASE TEMPS DE THROMBINE ET CORRECTION DU TEMPS DE THROMBINE*. Haute autorité de santé.
- Boura, C. (2003). *interêts des films minces multicouches de polyélectrolytes dans la conception de substituts vasculaires*.
- Castaman, G., Federici, A., Rodeghiero, F., & Mannucci, P. (2003). *Von Willebrand's disease in the year 2003: towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment*. Haematologica.
- Cazenave, P. J.-P. (2006). *Pathologie de l'hémostase primaire*.
- Celso, A. R., Nicolas, B., Régis, P. d., & Gérard, S. (2007). *Sang Thrombose Vaisseaux, Numéro 8*. John Libbey.
- Collinet, P., & Jourdain, M. (2007, 07 16). *Le HELLP syndrome*. (E. Masson, Éd.) Consulté le 03 19, 2014, sur [www. sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com): http://www.srlf.org/rc/org/srlf/htm/Article/2011/20110808-095436-110/src/htm_fullText/fr/0709-Reanimation-Vol16-N5-p386_392.pdf
- D., P., P.-A., B., C. A., D., F., S., & A., L. (2004). *Revue Médicale Suisse Le syndrome des antiphospholipides*.
- Dahlbäck, B. (1995). *The protein C anticoagulant system: inherited defects as a basis for venous thrombosis*. Thromb Res.
- De maistre, E., & Wahl, D. (1995). *John Libbey Eurotext*. Consulté le 05 20, 2014, sur *Déficit en plasminogène et thrombophilie*: <http://www.jle.com/fr/revues/medecine/stv/e-docs/00/03/D1/97/article.phtml?fichier=images.htm>
- De revel, T., & Doghmi, K. (2004). *Encyclopédie médico chirurgicale: Physiologie de l'hémostase*. Elsevier-Masson.
- Donna, C. (2014, Avril). *LIVER DISEASE AND COAGULATION OUTCOMES*. Récupéré sur [Aniara.com](http://www.aniara.com/Blog/Coagulation-Corner/archives/2010/11/LIVER-DISEASE-AND-COAGULATION-OUTCOMES.aspx): <http://www.aniara.com/Blog/Coagulation-Corner/archives/2010/11/LIVER-DISEASE-AND-COAGULATION-OUTCOMES.aspx>

Drake, T., Morrissey, J., & Edgington, T. (1989). Selective cellular expression of tissue factor in human tissues. Implications for disorders of hemostasis and thrombosis. *Am J Pathol* .

Françoise, R.-M., André, P., & al. (1998). *L'inflammation*.

Gahl, W., & Gunay-Aygun, M. (s.d.). *Syndrome des plaquettes grises*. Consulté le 04 02, 2014, sur Orphanet: http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=721.0

Gaussem, P, S., V, A., & M. (1998). *Exploration de l'hémostase dans la pathologie thromboembolique veineuse*. Consulté le 05 14, 2014, sur Jhon Libbey Eurotext: http://www.jle.com/fr/revues/bio_rech/abc/e-docs/00/00/C6/50/article.phtml?fichier=images.htm

Groupe d'étude hémostase et thrombose. (2002). Thrombopénie induite par l'héparine.

Groupe scientifique sur l'eau. (2003). *Le benzène*. Institut national de santé publique du Québec.

Gruel, Y., & Pouplard, C. (2000). *Physiopathologie des thrombopénies et des thromboses induites par les héparines*. (J. L. Eurotext, Éd.) Consulté le 03 19, 2014, sur <http://www.jle.com/e-docs/00/02/24/1B/article.md>

Gürkan, K. (2008). *Revue Médicale Suisse Dermatoporose : un syndrome émergent*.

Gundu, H. R. (1999). *Handbook of Platelet Physiology and Pharmacology*.

Gundu, R. R. (1999). *Handbook of Platelet Physiology and Pharmacology*.

Han, X., Fiehler, R. B., & Jr., G. (2000). *Characterization of protein Z-dependent protease inhibitor*. Blood .

Harrison, D. (1997). *Endothelial function and oxidant stress*. Clin Cardiol.

Hillman, R. S., & al. (2007). *Hématologie en pratique clinique:guide de diagnostic et de traitement*. Flammarion.

Hynes, R. (1992). *Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion*. Cell.

Jerry, B., & Lefkowitz, M. *Coagulation Pathway and Physiology*.

Jobin, F. (1995). *La thrombose*. Presses Université Laval.

Joseph, L., & Andrew I., S. (2003). *Thrombosis and Hemorrhage*. Lippincott Williams & Wilkins.

Klopocki, E., Schulze, H., Strauss, G., & al. (2007). .Complex inheritance pattern resembling autosomal recessive involving a microdeletion in thrombocytopenia-absen. *Am J Hum Genet* .

Lawrence, F. B. (2008). *Hematology Basic Principles and Practice Chapitre 116*. Elsevier.

Lebrazi, J., Sammama, M., & Bachmann, F. (2003). *Système du plasminogène et son exploration*. Editions scientifiques et médicale Elsevier.

Lebrazier, J., Bachmann, F., & Samama, M. (2012). *Système du plasminogène et son exploration*. Elsevier Masson.

Legrand, Y. (1987). *Le sang et les vaisseaux*. France: Hermann.

Léoni, J. (2014). *Physiopathologie de l'athérosclérose - Mécanismes et prévention de l'athérombose*. Consulté le 05 20, 2014, sur 1.2.3.bionet: <http://www.123bio.net/revues/jleoni/1chap2.html>

Leporrier, M. (1999). *hématologie*. Paris: Doin éditeurs.

Leverger, G., Petit, A., Landman-Parker, J., & Favier, R. (2009). *Thrombopénies génétiques*. Consulté le 03 16, 2014, sur www.jppediatrie.com/pdf/livre-2009/Article33_Leverger.pdf.

Lonial, S., Waller, E., Richardson, P., Jagannath, S., & al. (2005). *Risk factors and kinetics of thrombocytopenia associated with bortezomib for relapsed, refractory multiple myeloma*. Blood.

Magy, N. (2007). LA PROTEINE Z : CARACTERISTIQUES ET ROLE PROTHROMBOTIQUE.

McDowall, J. (2006). *Interpro*. Consulté le 05 20, 2014, sur http://www.ebi.ac.uk/interpro/potm/2006_11/Page1.htm

Megarbane, B., Drouet, L., & ElAlamy, I. (2013). *Les thrombopénies iatrogènes*.

Meyer Michelle, S., & Carole, E. (2000). *Cahier de formation en biologie médicale, Hémostase et thromboses*.

Michel, H. (2012). *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES Anomalies constitutionnelles de la fibrinolyse et syndromes hémorragiques*.

National heart lung and blood institute. (2007). *The Diagnosis, Evaluation, and Management of Von Willebrand disease*. NIH PUBLICATION.

Newman, P., & Chong, B. (2000). *Heparin-induced thrombocytopenia: new evidence for the dynamic binding of purified anti-PF4-heparin antibodies to platelets and the resultant platelet activation*. Blood.

Nurden, P., & Nurden, A. (2008). *Congenital disorders associated with platelet dysfunctions*. Thromb Haemost.

Palmer, R., & al. (1987). *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor*. Nature.

Patnaik, M.-M., & Moll, S. (2008). *Inherited antithrombin deficiency: a review*. 8 Blackwell Publishing Ltd.

Rao, G. H. (1999). *Handbook of Platelet Physiology and Pharmacology*.

Roger, S. R., Ann, R. T., & David, W. *Laboratory Evaluation Of Hemostasis*.

Ronald, H., Edward, J. B., Sanford, J. S., & Bruce, F. (2008). *HEMATOLOGY BASIC PRINCIPLES AND PRACTICE*. Elsevier.

Rosendaal, F. (1999). *Venous thrombosis : a multicausal cause*. Lancet.

Sabri, S., Foudi, A., Boukour, S., Franc, B., Charrier, S., Jandrot-Perrus, M., et al. (2006). *Deficiency in the Wiskott-Aldrich protein induces premature proplatelet formation and platelet production in the bone marrow compartment*. Blood.

Samama, M., & al. (2009). *Hémorragies et thromboses: du diagnostic au traitement*. Elsevier Masson.

Schiffer, C., Anderson, K., Bennett, C., Bernstein, S., & al. (2001). Platelet transfusion for patients with cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Onco* .

T., F., & J., P. (2001). *Revue Médicale Suisse Inflammation, coagulation et sepsis*.

Trossaër, M., & Guillet, B. *AUTO-ANTICORPS DIRIGES CONTRE LE FACTEUR VIII : hémophilie acquise*.

Twining, S., & al. (1999). Extrahepatic synthesis of plasminogen in cornea is up-regulated by interleukins 1 alpha et 1 bêta. *BiochemJ* .

Veyradier, A., Fressinaud, E., Goudemand, J., & Meyer, D. (2011). *von Willebrand disease*. Consulté le 05 2013, 12, sur <http://www.jle.com/en/revues/medecine/hma/e-docs/00/04/6D/14/article.phtml?fichier=images.htm>

Veyradier, A., Wolf, M., & al. (2011). ADAMTS13, la protéase spécifique. Elsevier Masson.

Wautrecht, J.-C. (2005). *La maladie veineuse thrombo-embolique : quel bilan de coagulation, pour qui, quand ?* Rev Med Brux.

Westen, B.-W., & Monahan, P.-E. (2008). Familial deficiency of vitamin K-dependent clotting factors. *Blackwell Publishing Ltd*.

Yanagisawa, M., & al. (1988). A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smoothmuscle Ca^{2+} channels. *J Hypertens Suppl*.

TROUBLES DE L'HEMOSTASE ET EXPLORATION BIOLOGIQUE

Auteurs : CHAIB Amel, HACENE Youcef Chakib

Encadreur : Dr. BOUDJELLAB F.

Résumé

L'hémostase est un processus physiologique complexe qui comprend une cascade d'étapes intriquées. Une anomalie au niveau de l'une de ces étapes aura pour conséquence un déplacement de l'équilibre hémostatique entraînant un état d'hypocoagulabilité ou d'hypercoagulabilité. Les troubles de l'hémostase sont d'origine constitutionnelle ou acquise et se manifestent cliniquement le plus souvent par des hémorragies ou des thromboses. La bonne conduite à tenir lors de l'exploration des troubles de l'hémostase est capitale. Les tests biologiques de routine (screening tests), bien que précieux dans l'orientation du diagnostic, ont certaines limites. En effet, l'orientation diagnostique des troubles de l'hémostase doit également tenir compte à la fois de l'anamnèse propre à chaque patient et du tableau clinique que présente celui-ci. Cependant, notre étude s'accroît d'avantage sur l'exploration biologique des troubles de l'hémostase que sur leur aspect clinique bien que le tableau clinique général propre à chaque trouble a également été décrit. En somme, il est nécessaire de donner plus de place dans le diagnostic des troubles de l'hémostase aux nouvelles méthodes spécialisées spécifiques, sûres et parfois plus précoces comme la PCR.

Mots clés : hémostase, troubles de l'hémostase, hémorragies, thromboses, exploration biologique.

Abstract

Hemostasis is a physiological process comprised of a sequel of metabolic reactions that result in preventing the blood constituents from flowing out of the vessel. Disorders in these processes will potentially result in hemorrhagic syndromes and/or thrombotic episodes and complications depending on the nature of the defect. The purpose of our study is to firstly provide a comprehensive description of the different hemostatic processes in order to get a better understanding of coagulation diseases, then to describe the said pathologies as well as their biological diagnosis. The practical approach that leads to the definitive diagnosis has to take into consideration, not only the results of the screening test, namely due to their lack of precision and specificity, but also the patient's personal history and his clinical evaluation, as well as the results of more specialized assays.

Keywords : hemostasis, hemostasis defects, bleeding diathesis, thrombosis, laboratory evaluation

ملخص

الارقاء عبارة عن عملية فيزيولوجية معقدة تتضمن العديد من المراحل المتداخلة والمتراصة فيما بعضها. ان ظهور أي خلل على مستوى هذه المراحل ينتج عنه اختلال في توازن عملية التخثر الدموي مما ينجم عنه نقص في التخثر الدموي أو إفراط في التخثر الدموي. ان الاضطرابات خلال الارقاء ذات أصل تكويني أو وراثي وتظهر جليا على المستوى الاكلينيكي على شكل نزيف دموي أو على شكل جلطة دموية. ان المراقبة الجيدة والسير الحسن خلال دراسة واستكشاف الاضطرابات الخاصة بالارقاء أمر ضروري جدا. رغم أهمية التحاليل البيولوجية الروتينية في تحديد مسرى الفحص الخاص بالارقاء، الا ان اسهامه محدود المستوى. وبذلك، فإن التوجه التشخيصي لحالة اضطرابات الارقاء يتقيد أيضا بالسجل الصحي لكل مريض والتقرير الاكلينيكي الخاص به. ان دراستنا تستند على معارف علوم الفيزيولوجيا فيما يخص الارقاء وذلك لتسهيل عملية التعرف على الأمراض الخاصة به. الدراسة تتعمق خصوصا في الاستكشاف البيولوجي لاضطرابات الارقاء علما أن التقرير الاكلينيكي لكل حالة سيرفق بالتفصيل. يتطلب الفحص المعمق لحالات اضطراب الارقاء الى فسح المجال للتقنيات الحديثة الأكثر تخصصا ودقة.

الكلمات الرئيسية : الارقاء - اضطرابات الارقاء - نزيف دموي - جلطة دموية - الاستكشاف البيولوجي

CHAIB AMEL
MLE.CHAIB@gmail.com

HACENE YUCEF CHAKIB
Youcef_h@outlook.com