

## 1.2. Hémostase secondaire

L'hémostase secondaire ou coagulation permet la consolidation du thrombus blanc formé au cours de l'hémostase primaire. Chez l'homme sa durée varie entre 5 et 10 minutes (De Revel, 2004) .

### 1.2.1. Origine et classification des différents facteurs de coagulation

L'hémostase secondaire met en jeu un ensemble de facteurs de la coagulation qui jouent le rôle d'enzymes, de co-facteurs ou de substrats (fibrinogène) et conduisent, par le biais de cascades d'activations, à la formation de fibrine.

Dans la majorité des cas, ces enzymes et co-facteurs sont synthétisés par le foie ; ils circulent sous forme libre inactive dans le sang (zymogène et pro-cofacteurs). A l'exception de la thrombine, la vitesse des réactions induites par les enzymes activées est lente en l'absence de membrane pro-coagulante ou de co-facteur activé. Les enzymes exercent des rétrocontrôles négatifs ou positifs sur les cascades d'activations ce qui permet la régulation de la coagulation (Smith, 2010).

Plusieurs cascades d'activations conduisent à la formation du thrombine et à terme de la fibrine. Elles sont représentées dans le schéma suivant (figure 2).

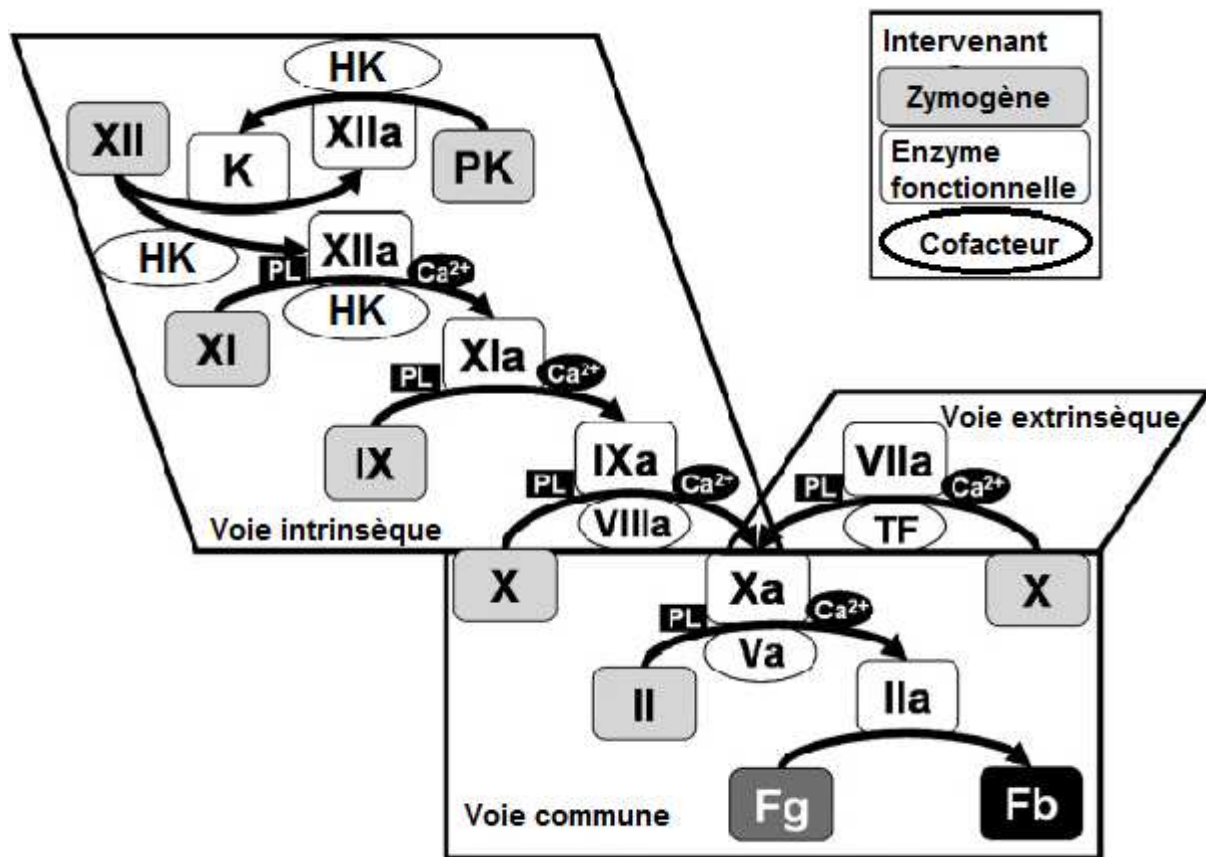
- **La voie de contact** permet l'activation de FXII, de la pré-kallikréine (PK), du kininogène de haut poids moléculaire (HK) et de ce fait elle permet l'activation de la voie intrinsèque. La voie de contact est initiée par l'activation spontanée de FXII et de la prékallikréine au contact d'une surface chargée négativement. Sur le schéma elle est intégrée à la voie intrinsèque qu'elle initie.
- **La voie intrinsèque** conduit à l'activation de FX par une cascade de réaction se déroulant à la surface des plaquettes activées, car elles exposent des sites permettant de lier différents protagonistes intervenant dans cette activation (FX, FVIIIa, FIXa).
- **La voie extrinsèque** doit son nom à son activation par une protéine extra-luminale présente à la surface de l'endothélium vasculaire, le facteur tissulaire (TF). Elle conduit à la formation de FXa grâce au complexe formé par TF et FVIIa
- **La voie commune** permet la formation de thrombine à partir de FXa produit par la voie extrinsèque ou par la voie intrinsèque ; elle permet par la suite la formation de fibrine qui se polymérise pour former un caillot de fibrine.

Les différentes voies sont présentées plus amplement en Annexe 2.

*In vivo* les différentes voies de coagulation sont interdépendantes surviennent de façon simultanée.

La voie de contact n'a pas un rôle clé pour la coagulation en condition physiologique mais elle est importante pour la formation de thrombus en condition pathologique. Les animaux présentant un facteur XII ou une prékallikréine non fonctionnelle ne sont pas sujet à des troubles de la coagulation. La voie de contact est responsable de la coagulation du sang dans les tubes à prélèvement en l'absence d'anticoagulant. La vitesse de coagulation dépend de la charge négative de la surface de contact, qui est plus importante sur du verre que sur du plastique. La voie de contact n'est pas dépendante du calcium et survient de ce fait en présence de chélateur calcique comme le citrate ou l'EDTA.

Figure 2 : Organisation schématique de la cascade de la coagulation telle qu'elle est extrapolée chez certains animaux dont les bovins (Smith, 2010).



Légende :

- facteurs de coagulation de la voie intrinsèque : XII XI X
- facteurs de coagulation de la voie extrinsèque : VII
- Facteurs de coagulation de la voie commune : X, II, fibrinogène (Fg) et fibrine (Fb)
- HK : High Molecular Weight Kininogen (cofacteur)
- PL : liaison de l'enzyme à la membrane plaquettaire pour avoir une activité suffisante

Certains facteurs (FII, FVII, IX, FX), la prothrombine, et des protéines de régulation comme la protéine C sont dépendants du cycle de la vitamine K. La vitamine K réduite permet la carboxylation de ces protéines et de fait augmente très fortement leur activité.

Les caractéristiques des principaux facteurs de coagulation et inhibiteurs sont reprises par le tableau ci après (tableau 3) (De Revel, 2004 ; Medaille et Briend-Marchal, 2008) .

Les temps de demi-vie indiqués sont ceux chez l'homme.

Tableau 3 : Caractéristiques des différents facteurs de coagulation (De Revel, 2004 ; Medaille et Briend-Marchal, 2008).

Facteur	Nom	Synthèse	Demi-vie	Fonction	Dépendance à la vitamine K
<b>Facteur de coagulation</b>					
I	Fibrinogène	Foie	3-4 jours	Substrat	Non
II	Prothrombine	Foie	3-5 jours	Zymogène	<b>Oui</b>
V	Pro-accelérine	Foie	12- 36h	Cofacteur	Non
VII	Pro-convertine	Foie	4-5h	Zymogène	<b>Oui</b>
VIII	Facteur anti-hémophilique A	Foie	10-14h	Cofacteur	Non
IX	Facteur anti-hémophilique B	Foie	24h	Zymogène	<b>Oui</b>
X	Facteur de Stuart	Foie	36-48h	Zymogène	<b>Oui</b>
XI	Facteur de Rosenthal	Foie	2-4j	Zymogène	Non
XII	Facteur de Hageman	Foie		Zymogène	Non
XIII	Facteur stabilisant la fibrine	Foie	6j	Zymogène	Non
<b>Facteur tissulaire</b>		Multicellulaire		Récepteur VIIa	
<b>Facteurs inhibiteurs</b>					
Antithrombine		Foie		Inhibiteur	Non
Protéine C		Foie		Zymogène	<b>Oui</b>
Protéine S		Foie		Cofacteur	<b>Oui</b>
Thrombomoduline		Cellule endothéliale		Récepteur IIa	Non

Les facteurs III, IV et VI n'apparaissent pas dans le tableau. Ils correspondent respectivement à la thromboplastine tissulaire (facteur tissulaire - TF), au calcium circulant et à la forme activée du facteur V (FVa).

### 1.2.2. Déroulement de l'hémostase secondaire

Le guide d'hématologie vétérinaire SCHALM's propose un modèle de formation de thrombine basé sur trois étapes qui se déroulent de façon concomitante par rapport aux étapes de l'hémostase primaire (Smith, 2010).

- **L'initiation de la coagulation** survient quand le sang se retrouve au contact de cellules portant des facteurs tissulaires. Il y a formation de complexes TF-FVIIa, activation de FIX, FX et FV. Les complexes FXa-FVa formés conduisent à la formation de fibrine.
- **L'amplification de la coagulation** est imputable à des changements à la surface des plaquettes et à une exocytose de protéines pro-agrégantes induits par la thrombine initialement formée
- **La propagation** se déroule à la surface des nouvelles plaquettes recrutées. Une cascade de réactions initiée par FXa conduit à la formation de thrombine. Lorsque qu'une quantité suffisante de thrombine est produite à une vitesse suffisante, il y a clivage du fibrinogène et formation du caillot.
- **La formation du caillot de fibrine** est due au clivage du fibrinogène en monomères, qui s'associent pour former à terme des polymères de fibrine. FXIIIa activé par la thrombine renforce la stabilité des fibres de fibrine en créant des liaisons covalentes entre fibres (fibrine réticulée).

Ces étapes sont détaillées en annexe 3.

### 1.2.3. Inhibiteurs de la coagulation

Les inhibiteurs de la coagulation permettent de limiter le phénomène de coagulation.

Les principaux inhibiteurs sont l'antithrombine III (AT-III), le Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI), le complexe protéine C/ protéine S, l'inhibiteur de la C1-estérase (Smith, 2010).

- **L'antithrombine III** inhibe de nombreuses molécules, principalement FXa et la thrombine, mais également les facteurs XIIa XIa, IXa, VIIa et la kallikréine. Elle devient active après liaison à la surface endothéliale, et son activité inhibitrice est fortement accélérée par l'héparine.
- **Le TFPI** joue un rôle important dans la régulation de la voie extrinsèque. Au repos, il est très majoritairement lié à la surface des cellules endothéliales.
- **Le complexe protéine C / protéine S** inactive FVa et FVIIIa et joue également un rôle anti-inflammatoire en modulant l'activité des cellules endothéliales et en limitant la production de thrombine. Les protéines C et S sont dépendantes de la vitamine K.
- **L'inhibiteur de la C1 estérase** est le principal inhibiteur de la voie de contact ; il agit sur FXIIa, la kallikréine et FXIa. Son action est potentialisée par l'héparine et les héparanes sulfates.

## En bilan

---

---

- **L'hémostase secondaire** permet la formation du caillot de fibrine grâce à une cascade d'activations enzymatiques de la voie extrinsèque ou intrinsèque faisant intervenir des facteurs de coagulation. Elle est régulée par des inhibiteurs.
  - **Les facteurs de coagulation** sont synthétisés par le foie, le facteur tissulaire par plusieurs types cellulaires dont les cellules endothéliales.
  - **La voie de contact** a peu d'importance en condition physiologique mais est responsable de la coagulation du sang lors de prélèvement en l'absence d'anticoagulant ; elle est importante lors de coagulation pathologique.
  - **Les facteurs de coagulation II, VII, IX, X, les inhibiteurs de la coagulation que sont les protéines C et S** sont dépendants de la vitamine K.
  - Les réactions se déroulent majoritairement à la surface des plaquettes activées.
- 
-

## **1.2.4 Altérations possible de l'hémostase secondaire**

Les altérations de l'hémostase secondaires peuvent être classées en coagulopathies acquises ou héréditaires.

Dans la partie suivante nous présenterons les altérations classiquement observées y compris dans d'autres espèces. Plusieurs exemples bovins seront détaillés dans un second temps.

### **1.2.4.1 Coagulopathies héréditaires**

- **Coagulopathies liées à l'X : hémophilies A et B**

Les coagulopathies héréditaires sont des maladies dues à des mutations situées sur les gènes impliqués dans la synthèse ou l'activation de facteurs de coagulation.

Les hémophilies A et B sont dues à des déficits distincts situés sur le chromosome X, à l'origine de troubles fonctionnels ou de déficits quantitatifs en facteurs FVIII et FIX respectivement. Les femelles hétérozygotes ne présentent pas de troubles de la coagulation. Les signes cliniques sont observables uniquement chez les mâles (hémarthrose, hématomes, hémorragies dues à des blessures mineures...).

L'hémophilie A est la coagulopathie héréditaire la plus fréquente chez l'homme et l'animal. Elle a été décrite dans différentes espèces comme le chat, le chien ou le cheval, mais également dans plusieurs races de vaches dont la Hereford. Il n'y a pas de cas rapporté d'hémophilie B chez les bovins (Brooks, 2010).

L'hémophilie A sera présentée plus amplement par la suite.

- **Coagulopathies liées à des chromosomes hétérologues**

Les coagulopathies liées à une anomalie sur un chromosome hétérologue sont moins fréquentes que les hémophilies. Elles sont dues principalement à des mutations récessives.

Des déficits ont été rapportés pour le fibrinogène, ainsi que les facteurs II, VII, X, XI et XII dans différentes espèces animales.

Chez les bovins, un déficit en facteur XI a été décrit chez des vaches Prim'Hostein et Wagyu.

En cas de déficit d'une des enzymes dépendant de la vitamine K qui permet la phosphorylation des facteurs II, VII, IX et X, il y a déficit combiné de ces facteurs. Cette anomalie n'a pas été décrite chez les bovins (Brooks, 2010).

### 1.2.4.2 Coagulopathies acquises

Les coagulopathies acquises peuvent être classées selon leur mécanisme d'apparition (tableau 4) (Brooks et De Laforcade, 2010).

Tableau 4 : Principaux mécanismes entraînant une coagulopathie.

Mécanisme	Syndrome causal	Défaut de facteur de coagulation associé
Défaut de synthèse	Maladie hépatique : insuffisance hépatique sévère et diminution importante de la masse hépatique fonctionnelle  Shunt portosytémique	Taux faible pour la plupart des facteurs de coagulation avec persistance de l'activité de FVIII Hypofibrinogénémie et dysfibrinogénémie Faibles taux d'antithrombine et de protéine C  Faible taux de protéine C
Défaut d'activation lié à la vitamine K	Cholestase, malabsorption intestinale, antagonistes de la vitamine K, nouveau-né	Faible taux de protéines C, de facteurs II, VII, IX et X
Vitesse de consommation excessive	CIVD  Envenimation	Variations complexes de l'activité des facteurs de coagulation Diminution du taux d'antithrombine  Hypofibrinogénémie, déficits variables des autres facteurs
Inhibiteurs de la coagulation	Inhibiteurs alloimmuns ou autoimmuns  Anticorps dirigés contre les protéines des phospholipides  Surdosage d'héparine	Déficit en un seul facteur (le plus souvent FVIII)  Activité normale des facteurs de coagulation  Neutralisation des facteurs de type protéase sérique (notamment FX et FII)
Hyperfibrinolyse	CIVD, tumeur, agents infectieux, chirurgie de la prostate	Déficits complexes des facteurs de coagulation, taux importants d'activateurs du plasminogène, hypofibrinogénémie

- **Défaut de synthèse en facteurs de coagulation**

#### **Insuffisance hépatique**

Le foie est impliqué dans la synthèse des facteurs de coagulation et des agents anticoagulants ; il produit également d'autres protéines clés (facteurs II, VII, IX, X, XI, XII, protéines C et S, facteurs V, XIII, antithrombine, plasminogène).

En cas d'insuffisance hépatique, un déficit en facteurs de la coagulation se met en place, d'autant plus rapidement que le temps de demi-vie du facteur est court. Le fibrinogène est souvent normal à augmenté chez les animaux atteints de maladie hépatique inflammatoire ou liée à une cholestase. Lors d'insuffisance hépatique les animaux présentent des troubles de la coagulation de gravité variable, allant du saignement spontané au prolongement du temps de coagulation du sang lors de prélèvement sans autre signe clinique.

Les hépatocytes atteints produisent parfois un fibrinogène incapable de coaguler, responsable d'une hypofibrinogénémie. Le pronostic vital est mauvais chez ces animaux (Brooks et De Laforcade, 2010).

Les atteintes hépatiques entraînent également des modifications au niveau de la réactivité des plaquettes et des cellules endothéliales, de la production et de l'activité des protéines pro-coagulantes et anti-coagulantes, des modifications de la fibrinolyse. Des complications

comme une hypertension et une splénomégalie peuvent être observées (Brooks et De Laforcade, 2010).

- **Défaut d'activation lié à la vitamine K**

La vitamine K est indispensable à l'activation par carboxylation de certains facteurs (facteurs II, VIII, IX, X, protéines C et S).

Un déficit en vitamine K peut être observé lors de défaut d'absorption intestinale ou un mauvais recyclage hépatique. La coumarine (comme la warfarine) inhibe de façon irréversible l'activité epoxide réductase qui intervient dans le recyclage de la vitamine K. Leur action sera développée ultérieurement.

- **Vitesse excessive de consommation des facteurs de coagulation**

Les hémorragies chroniques ou aiguës ne conduisent pas à des déficits en facteurs de coagulation chez les animaux présentant un fonctionnement hépatique normal.

Si la consommation des facteurs dépasse les capacités de synthèse du foie, comme c'est le cas lors de CIVD, il est possible d'observer des signes d'hémorragie.

Les protéases contenues dans certains venins de serpent sont capables d'activer les facteurs de coagulation et/ou de cliver le fibrinogène, ce qui entraîne une perte de facteurs plasmatiques par consommation. Un déficit en facteur X peut être observé chez l'homme, pour les patients atteints d'amyloïdose mais il n'a pas été décrit chez l'animal.

- **Dilution des facteurs de coagulation**

Une dilution des facteurs de coagulation peut être présente suite à une fluidothérapie agressive ou une transfusion massive (plus d'une fois le volume sanguin en 24 h) (Brooks et De Laforcade, 2010).

Pour une vache dont le volume sanguin représente 8 % du poids du corps soit environ 48 kg pour une vache de 600 kg (Soldan, 1999), cela paraît difficilement réalisable. *A contrario* pour un veau, cette complication est à envisager lorsque de grands volumes sont perfusés à l'animal.

- **Inhibiteurs de la coagulation**

Des anticorps dirigés contre certains facteurs de la coagulation peuvent se développer chez des malades suite à des transfusions. Par exemple, chez les chiens atteints d'hémophilie A ou B, on a retrouvé des anticorps dirigés contre les facteurs VIII ou IX.

Ces troubles ne seront pas évoqués par la suite.

- **Hyperfibrinolyse**

Une fibrinolyse accélérée peut être à l'origine de troubles de la coagulation lorsque le caillot de fibrine est dégradé avant réparation de la brèche vasculaire.

L'hyperfibrinolyse s'observe dans les maladies produisant une augmentation des activateurs du plasminogène ou une diminution de ses inhibiteurs. Chez l'homme, cet état est retrouvé au cours de maladies infectieuses comme la dengue, dans certaines tumeurs ou lors de CIVD.

Ces troubles ne seront pas développés ultérieurement.



En bilan

---

---

➤ **Les coagulopathies héréditaires sont :**

- liées à l'X : hémophilie A et B ;
- liées à des chromosomes hétérologues : II, VII, X, XI, fibrinogène.

L'hémophilie A est décrite chez les bovins, ainsi que le déficit en facteur XI.

➤ **Les coagulopathies acquises sont dues à :**

- un défaut de synthèse (hépatopathie) ;
  - un défaut d'activation lié à la vitamine K ;
  - une vitesse de consommation excessive (CIVD) ;
  - la présence d'inhibiteurs de la coagulation ;
  - une hyperfibrinolyse.
- 
-

### **1.3. Fibrinolyse**

La fibrinolyse fait le pendant de la coagulation et met en jeu une cascade de réactions conduisant à l'élimination du caillot formé par dégradation de la fibrine.

La fibrinolyse dure entre 48 à 72 h et peut être décomposée en deux étapes principales, la formation de la plasmine par activation du plasminogène et la dégradation de la fibrine et du fibrinogène (De Revel, 2004) .

De nombreux composants de la fibrinolyse sont également impliqués dans des mécanismes de réparation tissulaire comme l'adhésion, la migration et la prolifération cellulaire.

#### **1.3.1. Facteurs de la fibrinolyse**

##### **1.3.1.1. Plasminogène**

Le plasminogène est une protéine de 92 kDa synthétisée par le foie.

Elle est transformée en plasmine par les facteurs d'activation du plasminogène, qui clivent la molécule.

Cette enzyme a une demi-vie extrêmement courte sous forme libre (0,1s) (Smith, 2010).

et dégrade la fibrine polymérisée en produits de taille hétérogène, les FDP (produits de dégradation de la fibrine).

##### **1.3.1.2. Activateurs du plasminogène**

Les mammifères comme les bovins produisent deux types d'activateurs du plasminogène, l'activateur tissulaire (tPA) et l'activateur urokinase (uPA).

- **Activateur tissulaire du plasminogène tPA**

L'activateur de type tissulaire est une protéine produite et sécrétée par les cellules endothéliales en réponse à de nombreux stimuli comme la bradykinine, l'histamine, l'acétylcholine, le PAF. Elle circule en faible quantité sous forme libre et est généralement liée à son inhibiteur principal PAI-1. Les protéines tPA et tPA-PAI-1 sont rapidement capturés dans la circulation générale par liaison aux récepteurs des cellules endothéliales et des hépatocytes.

Le tPA n'est pas un zymogène mais une enzyme faiblement active en l'absence de fibrine.

- **Activateur urokinase du plasminogène uPA**

L'uPA est sécrétée sous forme inactive par les cellules épithéliales, les monocytes, les cellules endothéliales et les cellules semblables aux fibroblastes. La pro-urokinase est activée par la plasmine, FXIIa et la kallikréine.

L'uPA peut activer le plasminogène en l'absence de fibrine.

Le tPA est le principal activateur de PLG dans les vaisseaux et l'uPA le principal activateur extravasculaire.

### **1.3.2. Inhibiteurs de la fibrinolyse**

#### **1.3.2.1. Plasminogen Activator Inhibitor 1 (PAI-1)**

Le plasminogen activator inhibitor 1 est une enzyme synthétisée par plusieurs types cellulaires, dont les cellules endothéliales. Il est instable seul et circule sous forme liée à la vitronectine. Il peut se lier à tPA et uPA et perd alors son affinité pour la vitronectine et son affinité pour un récepteur cellulaire augmente, ce qui conduit à une clairance rapide de PAI-1.

#### **1.3.2.2. $\alpha$ 2-antiplasmine ( $\alpha$ 2-AP)**

L' $\alpha$ 2 – antiplasmine est synthétisée par le foie et a une demi-vie de 3 jours environ. Elle se lie avec le plasminogène ce qui inhibe son activation. Le complexe plasmine-fibrine est résistant à l'inhibition par l' $\alpha$ 2-AP.

#### **1.3.2.3. Inhibiteur de la fibrinolyse activée par la thrombine (TAFI)**

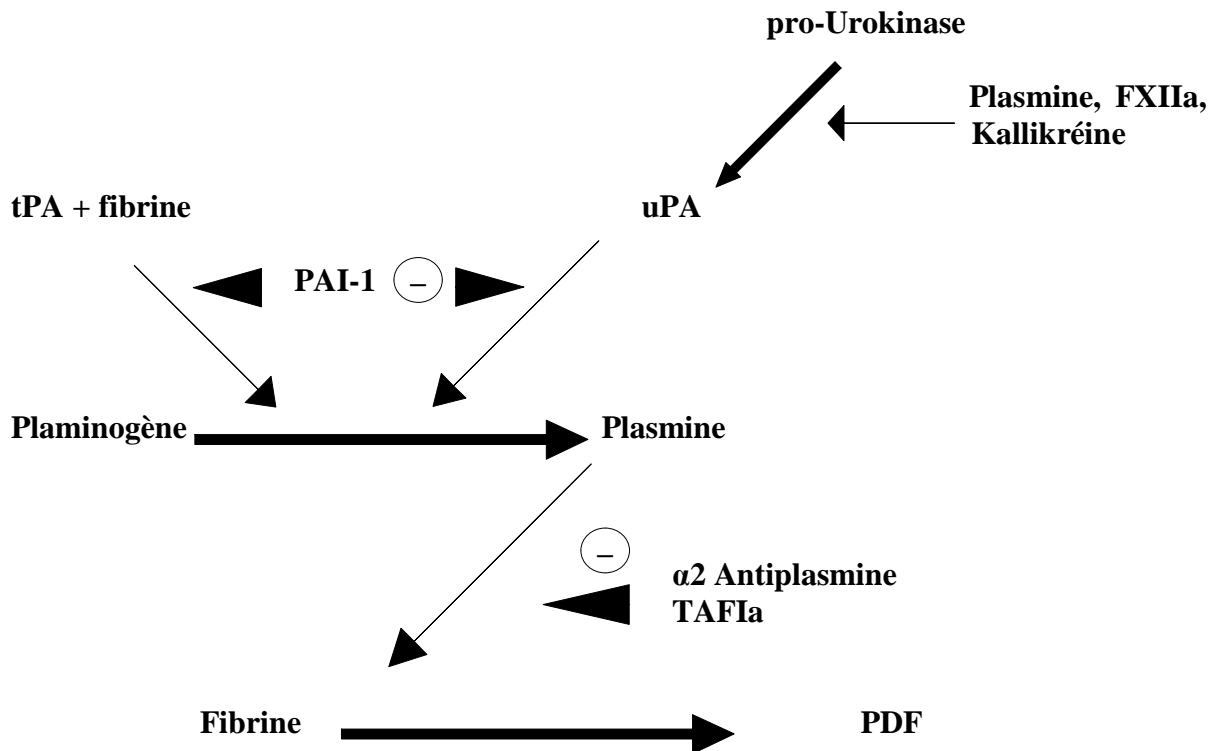
Le TAFI est synthétisé par le foie et activé par la thrombine et la plasmine. Cette activation est très fortement augmentée par liaison avec la TM. Le TAFI inhibe la fibrinolyse en modifiant sur la fibrine polymérisée des sites qui permettent la fixation du plasminogène ou de ses activateurs.

#### **1.3.2.4. Autres inhibiteurs**

D'autres inhibiteurs non spécifiques interviennent dans la régulation de la fibrinolyse, comme l'inhibiteur de la protéine C.

Les étapes de la fibrinolyse sont résumées dans le schéma suivant (figure 3). Les altérations de la fibrinolyse comme l'hyperfibrinolyse ne seront pas évoquées par la suite.

Figure 3 : Les différentes étapes de la fibrinolyse (Legru, 2009).



Légende :

- Représente une transformation
- Représente une activation
- ▶** Représente une inhibition

**PAI-1** : Plasminogen Activator Inhibitor 1

**PDF** : Produits de dégradation de la fibrine

**TAFIa** : Inhibiteur de la fibrinolyse activé par la thrombine (sous forme active)

**tPA** : Activateur tissulaire du plasminogène

**uPA** : Activateur urokinase du plasminogène

#### **1.4. Cas particulier des vascularites**

Les troubles acquis de l'hémostase peuvent affecter les plaquettes et les facteurs de coagulation, mais également les vaisseaux (Aleman *et al.*, 2002).

Les vascularites sont des processus pathologiques au cours desquels il y a inflammation et nécrose de la paroi des vaisseaux sanguins, entraînant des troubles de l'hémostase.

Les vascularites sont rares chez les bovins, mais peuvent accompagner certaines infections comme la fièvre catarrhale maligne (coryza gangreneux) (Aleman *et al.*, 2002 ; Simon *et al.*, 2003). Elles ne seront pas présentées par la suite.

- **Signes cliniques**

Les lésions associées à une vascularite sont des lésions d'œdème, d'infarctissement, de nécrose, des exsudations, des pétéchies, des ecchymoses, et des ulcérations. Les lésions hémorragiques et de nécrose peuvent être retrouvées sur tous les organes. Les animaux atteints sont hyperthermes.

- **Diagnostic**

La peau prélevée par biopsie punch présente des signes d'infiltration neutrophilique des veinules du derme et de l'épiderme, des plages de nécrose fibrinoïde. Des tests d'immunofluorescence peuvent être utilisés pour rechercher la présence des complexes immuns impliqués dans les vascularites.

- **Traitement**

Les animaux répondent peu aux traitements instaurés lors de vascularite idiopathique. Le pronostic est réservé (Aleman *et al.*, 2002).