

Cette sécrétion dépend également énormément de la concentration cytoplasmique en calcium. Par exemple, les anti-inflammatoires non stéroïdiens ont une action inhibitrice de ce phénomène.

MCours.com

#### **IV. LA COAGULATION OU PHASE PLASMATIQUE**

L'hémostase primaire suffit à stopper un saignement dû à la lésion d'un capillaire. Elle est renforcée par le phénomène de coagulation si le vaisseau endommagé est de plus gros diamètre. La coagulation est l'ensemble du processus qui conduit à la formation du caillot sanguin par transformation du fibrinogène, protéine plasmatique soluble, en fibrine insoluble. La phase plasmatique fait intervenir de nombreux facteurs qui interagissent entre eux.

## A. LES DIFFÉRENTS FACTEURS DE LA COAGULATION

Les facteurs de coagulation sont désignés par un numéro dont l'origine dépend de leur découverte. Les différents facteurs nécessitent une activation, on les désigne alors par la lettre a (exemple : facteur VII activé = VIIa).

### 1. Facteur I

#### a. Fibrinogène

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

Il est synthétisé principalement au niveau des hépatocytes, mais aussi au niveau des mégacaryocytes. Il a un poids moléculaire estimé entre 340 et 370 kDa. La molécule de fibrinogène est une protéine hexamère faite de 3 chaînes différentes reliées entre elles :  $A\alpha$ ,  $B\beta$  et  $\gamma$ . Néanmoins il existe une autre forme de fibrinogène, le fibrinogène 420, qui représente 1 % du total plasmatique et de poids moléculaire 420 kDa. La chaîne  $\alpha$  est alors remplacée par une chaîne  $\alpha E$  plus longue de 236 acides aminés. La molécule de fibrinogène est formée de 2 sous-unités identiques reliées par des ponts disulfures, donnant à la molécule une forme de fibre contenant 3 globules : un central (domaine E) et deux distaux (domaines D). Chez l'Homme, la molécule entière contient 2964 acides aminés : 610 acides aminés pour la chaîne  $A\alpha$ , 461 pour la chaîne  $B\beta$  et 411 pour la chaîne  $\gamma$ . Enfin le facteur I contient 4 chaînes polysaccharidiques [170].

Le centre de la protéine étant riche en glutamate, aspartate et tyrosine-O-sulfate, cette région est donc fortement négative ce qui permet au fibrinogène d'être hydrosoluble et aux diverses molécules de se répulser entre elles.

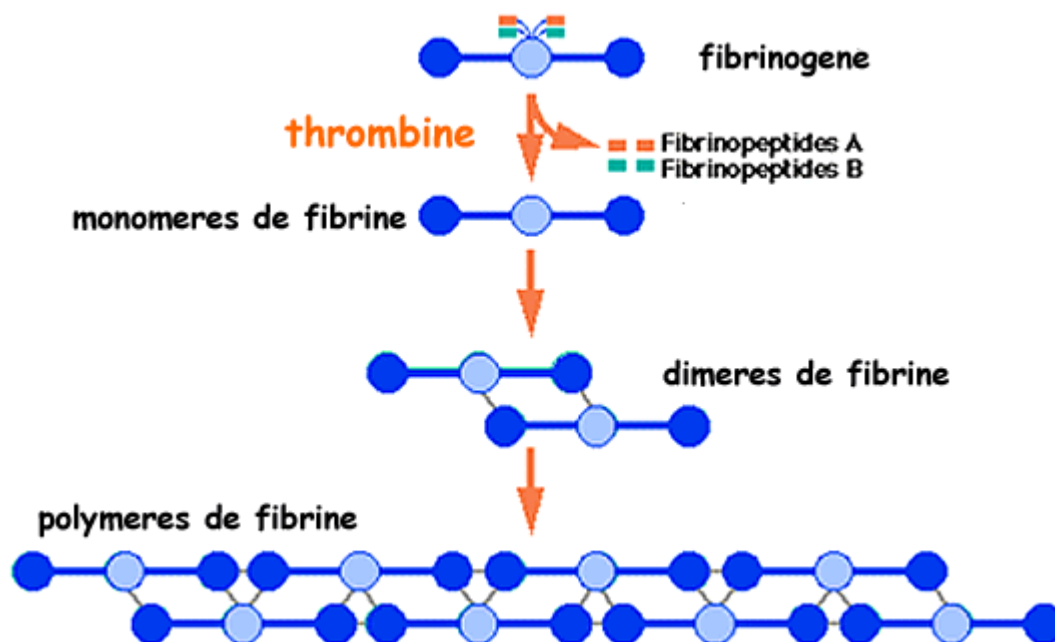
Il a été montré chez l'Homme que chaque chaîne est codée par un gène différent, respectivement *FGA* (*Fibrinogen chain Alpha*) (5 exons + 1 exon responsable de la chaîne  $\alpha E$ ), *FGB* (*Fibrinogen chain Beta*) (8 exons orientés dans le sens contraire de la transcription de *FGA* et *FGG*) et *FGG* (*Fibrinogen chain Gamma*) (10 exons) tous situés sur le chromosome 4q26-qter dans une région d'approximativement 50 kilobases. L'assemblage des chaînes s'effectue dans le réticulum endoplasmique avec la formation de molécules intermédiaires ( $A\alpha\gamma$  ou  $B\beta\gamma$ ), l'ajout de la troisième chaîne (respectivement  $B\beta$  ou  $A\alpha$ ) et la dimérisation en  $(A\alpha B\beta\gamma)_2$ . Le passage dans l'appareil de Golgi fait subir au dimère de nombreuses modifications telles que phosphorylation, hydroxylation ... Il est également à noter que les chaînes  $B\beta$  et  $\gamma$  présentent à leur extrémité C-terminale un domaine homologue d'environ 250 acides aminés appelé FReD (*fibrinogen-related domain*) et qui est conservé dans diverses protéines chez plusieurs espèces animales [170].

La concentration plasmatique du fibrinogène est comprise entre 2 et 4 g/L chez l'Homme ; chez le Chien, elle semble également comprise entre 2,5 et 4 g/L. La demi-vie de cette molécule est d'environ 36 heures chez le Chien avec un turnover de 500  $\mu\text{g/mL/jour}$  [74].

#### b. Fibrine

La thrombine clive la partie amino-terminale des chaînes  $A\alpha$  et  $B\beta$ , libérant par la même les fibrinopeptides A et B (en premier lieu A puis B) dans le globule central E, pour donner des monomères de fibrine ; ce clivage est permis par la rupture des ponts arginine-glycine. La nouvelle chaîne amino-terminale ainsi formée au niveau du domaine E se lie au site « a » de la partie carboxy-terminale d'une chaîne  $\gamma$  (domaine D) d'un autre monomère de fibrine. Cette interaction permet la formation d'un alignement de monomères : la protofibrille. Les régions carboxy-terminale des chaînes  $\alpha$  interagissent entre elles formant des fibres épaisses. Enfin la polymérisation de la chaîne  $\beta$  avec un site b pour le moment inconnu conduit à l'accroissement en largeur des fibrilles amenant à la formation de fibres (Figure 5). Toutes les liaisons faibles et ioniques ainsi formées seront renforcées par l'action du facteur XIIIa qui crée des liaisons covalentes entre les divers polymères. Le rôle exact du fibrinogène 420 n'est toujours pas connu [182].

Figure 5. Représentation schématique de la formation de la fibrine à partir du fibrinogène  
(d'après [www.Tollefsen.wustl.edu](http://www.Tollefsen.wustl.edu))



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

## 2. Facteur II

### a. Prothrombine

Le facteur II ou prothrombine est une protéine plasmatique qui est le précurseur inactif de la thrombine. Chez le Chien, la synthèse s'effectue au niveau des hépatocytes et nécessite la présence de vitamine K. La vitamine K intervient dans les modifications post-translationnelles au niveau du réticulum endoplasmique pour établir la structure de la molécule par l'intermédiaire des résidus glutamate  $\gamma$ -carboxylés (GLA). Ces GLA permettent la liaison au calcium et aux phospholipides, propriété indispensable pour une liaison avec le complexe prothrombinase. La

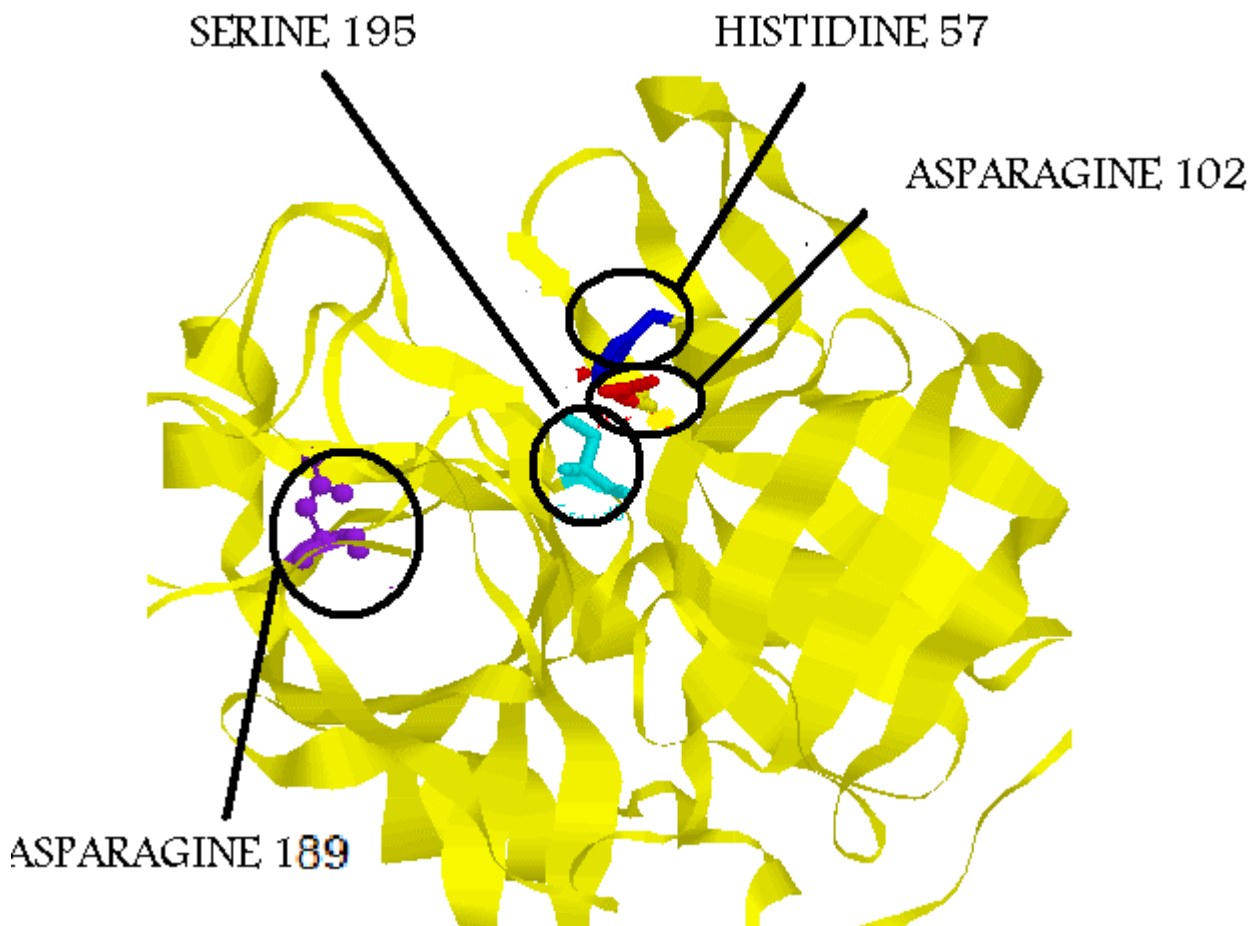
conversion de la prothrombine en thrombine nécessite la présence de calcium, du facteur Va, du facteur Xa et du facteur plaquettaire 3, qui forment un complexe appelé prothrombinase [170].

La protéine a un poids moléculaire de 70 kDa et une concentration plasmatique de l'ordre de 100 à 150 mg/L chez l'Homme et chez le chien. Sa demi-vie est d'environ 100 heures et son *turnover* est de 40 µg/mL/jour. Elle est formée de 3 boucles dues à la présence de ponts disulfures. Elle est composée de 579 acides aminés. Le gène codant pour la prothrombine est situé sur le chromosome 11 en position 11p11-q12 chez l'Homme [170].

#### b. Thrombine

La thrombine est formée de deux chaînes, une chaîne légère de 36 acides aminés et une chaîne lourde de 259 acides aminés dont la formation est consécutive au clivage de la prothrombine. C'est au niveau de la chaîne lourde que se trouve le site actif de la molécule ; celui-ci est composé de 4 acides aminés : Sérine 195 – Histidine 57 – Asparagine 102 – Asparagine 189 (Figure 6). Ce site est protégé par une boucle Tyr60A-Pro60B-Pro60C-Trp60D (YPPW) dont la structure est présente dans les 11 thrombines retrouvées dans le monde animal. Une deuxième boucle Trp148 s'oppose à YPPW et joue un rôle dans la coagulation. Après activation, la thrombine se détache des phospholipides auxquels elle s'est liée au cours de l'activation de la prothrombine par le facteur Xa [170].

Figure 6. Modélisation de la structure de la thrombine chez l'Homme [49]



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

Elle active les facteurs V, VIII, XI et XII mais de manière antagoniste a également un effet anticoagulateur par sa liaison avec la thrombomoduline à l'origine d'une activation de la protéine C. La thrombine joue un rôle dans la réponse inflammatoire et la cicatrisation ; elle a en effet un rôle chimiotactique sur les monocytes et les fibroblastes. Elle active également les plaquettes et les neutrophiles qui relarguent alors de nombreuses molécules dont des cytokines, des facteurs de croissance et des facteurs chimiotactiques. Il existe notamment 5 récepteurs à la thrombine au niveau des plaquettes : PAR-1 (*Protease Activated Receptor 1*), PAR-4 (*Protease Activated Receptor 4*), glycoprotéine Ib, glycoprotéine V et un « site de liaison de haute affinité ».

L'inactivation de la thrombine est permise par l' $\alpha$ 2-macroglobuline, HC II (*Heparin Cofactor II*) et par l'antithrombine III. La modification du site actif de la thrombine lors de la liaison de la

thrombine à la fibrine polymérisée entraîne une inhibition plus efficace de celle-ci par l'antithrombine III.

### 3. Facteur III

Le facteur III ou thromboplastine tissulaire (ou thrombokine ou facteur tissulaire) est une molécule potentiellement synthétisée par tous les tissus. La thromboplastine permet l'activation du facteur VII et est à l'origine de la voie extrinsèque. Elle est présente sur la surface des vaisseaux sanguins et sa quantité augmente en cas d'inflammation.

La thromboplastine est une glycoprotéine à simple chaîne de 261 ou 263 acides aminés et de poids moléculaire de 45 kDa pour la molécule glycosylée. La structure du facteur III est organisée en 3 domaines [170] :

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

Le gène de la thromboplastine tissulaire a été localisé sur le chromosome 1 chez l'Homme (1p21) alors qu'il a été localisé sur le chromosome 3 de la Souris [170].

C'est le seul facteur de la coagulation qui n'est ni activé ni inactivé par protéolyse. La thromboplastine est présente sous forme de dimère à la surface des cellules. Un flux calcique entraîne la dissociation de ce dimère à l'origine d'un changement de structure quaternaire de la molécule qui lui confère la possibilité de s'associer au facteur VII.

Aucun déficit congénital en ce facteur n'a jamais été décrit.

### 4. Facteur IV

Le facteur IV correspond au calcium qui intervient en de multiples étapes au cours de la coagulation. Le calcium est un métal alcalino-terreux qui correspond à l'élément numéro 20 dans la classification de Mendeleïev ; sa masse atomique est de 40,08 uma (unité de masse atomique) et sa densité de 1,54. Il participe à un grand nombre de phénomènes physiologiques tels que la

synthèse osseuse ou les contractions musculaires. Quatre vingt dix neuf pour cent du calcium est stocké sous forme d'hydroxyapatite dans la masse inorganique de l'os, 0,9 % est séquestré dans la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique et 0,1 % dans le liquide extracellulaire dont 50 % sous forme ionisée ( $\text{Ca}^{2+}$ ) qui est la forme biologiquement activé, 45 % lié aux protéines et 5 % complexé (Ca-citrate, Ca-lactate, Ca-bicarbonate, Ca-phosphate).

Une hypocalcémie responsable d'un défaut de coagulation sanguine entraînerait la mort de l'animal et ne se rencontre donc pas en pratique.

## 5. Facteur V

Le facteur V ou proaccéléline (ou AC-globuline (*globulin accelerans*)) est une molécule de poids moléculaire égal à 330 kDa. Sa concentration plasmatique est, chez le chien, comprise entre 5 et 12  $\mu\text{g/mL}$ , sa demi-vie est d'environ 25 heures et son turnover de 10  $\mu\text{g/mL/jour}$ . La proaccéléline est synthétisée au niveau des hépatocytes et des macrophages.

Elle existe sous 2 formes circulantes : une forme monocaténaire de poids moléculaire de 330 kDa et une forme, dont la partie centrale a été excisée, de poids moléculaire compris entre 200 et 280 kDa. La proaccéléline est présente dans le plasma et dans les granules  $\alpha$  des plaquettes [170].

Le gène codant pour la proaccéléline est localisé chez l'Homme au niveau du chromosome 1 en position 1q23.

Le facteur V est activé en accéléline initialement par le facteur Xa et par de faibles concentrations du facteur II. L'action procoagulante du facteur V s'explique par l'activation provoquée de la prothrombine permise par l'action de la prothrombinase, complexe au sein duquel agit l'accéléline (ou facteur VI). Toutefois le facteur V se doit d'être activé par la thrombine pour que le complexe thrombinase se forme. La thrombine doit donc être initialement formée par le facteur Xa sans l'accéléline. Ce mécanisme permet une régulation du système : la thrombine étant formée uniquement par le facteur Xa lié aux phospholipides, elle peut être inhibée par l'antithrombine III ou un autre inhibiteur avant l'activation de la proaccéléline. Le facteur V a également une action anticoagulante ; c'est en effet un cofacteur de la protéine C activé qui inhibe l'activation du facteur VIII [170].

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



## 6. Facteur VI

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

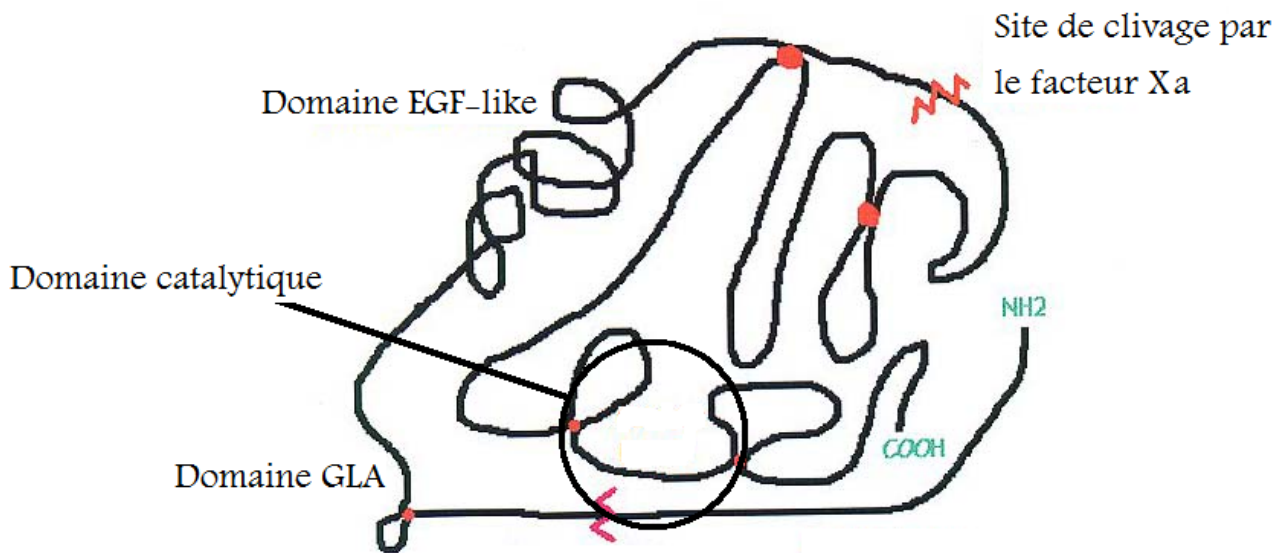
## 7. Facteur VII

Le facteur VII ou proconvertine est une glycoprotéine plasmatique de 63 kDa, formée d'une seule chaîne de 406 acides aminés. La concentration plasmatique est de 1 µg/mL, sa demi-vie de 5 heures et son *turnover* de 2 heures. La proconvertine est synthétisée au niveau des hépatocytes et sa synthèse dépend de la vitamine K.

Le facteur VII possède un domaine GLA (domaine riche en acides  $\gamma$ -carboxyglutamiques), une partie hydrophobe, deux domaines EGF-like (*Epidermal Growth Factor-like*) et un domaine sérine protéase homologue à celui de la trypsine (Figure 7). Chez l'Homme, le gène de la proconvertine est situé sur le chromosome 13 en position 13q33 à seulement 2,8 kilobases de celui du gène codant pour le facteur X [170].

L'activation du facteur VII est permise par l'action conjointe du facteur tissulaire et du calcium qui crée une zone de clivage entre l'arginine 152 et l'isoleucine 153. Le facteur VII est également activé par les facteurs Xa, IXa et XIIa et l'hepsine. Le complexe Facteur III – Facteur VIIa est à l'origine d'une auto-activation du facteur VII [92]. Enfin le facteur VII peut être activé par une autre protéase, la *Plasminogen Activator-Activating Protease* (FSAP) ou *Plasma Hyaluronan Binding Protein* (PHBP) dont l'activité est augmentée en présence de matériel intracellulaire dont les glycosaminoglycanes (héparine, hyaluronase) ce qui constitue une voie parallèle d'activation intrinsèque de la coagulation [168].

Figure 7. Structure protéique du facteur VII



**Légende :** le facteur VII possède plusieurs domaines importants fonctionnellement : un domaine EGF-like, un domaine catalytique et un domaine GLA (domaine riche en acide  $\gamma$ -carboxyglutamique). Le schéma indique également le site de clivage par le facteur Xa.

Le complexe facteur tissulaire – facteur VIIa active le facteur X dans la voie extrinsèque.

Le facteur VIIa est inhibé par :

- le complexe TFPI (*Tissue Factor Pathway Inhibitor*)-Xa qui amène à la formation d'un complexe TFPI-Xa-III-VIIa,
- l'annexine V,
- l'antithrombine se lie au complexe III-VIIa et le dissocie avant de s'associer avec le facteur VIIa empêchant ainsi toute réaction avec le facteur III tissulaire,
- le facteur plaquettaire 4,
- la sphingosine.

## 8. Facteur VIII

Le facteur VIII:C (ou facteur antihémophilique) est une glycoprotéine composée de deux chaînes, une chaîne lourde de poids moléculaire variant entre 90 000 et 210 000 Daltons (Da) et une chaîne légère d'un poids moléculaire de 80 000 Da, stabilisée par un ion métallique de cuivre, dont la chélation avec le calcium inhibe l'activité du facteur VIII:C. *In vivo*, ce complexe circule lié dans le plasma avec le vWF ( $K_d < 0,5$  nmol/L) avec une stoechiométrie d'une molécule de facteur VIII:C reliée à un monomère de ce dernier. Le site de liaison avec le vWF se trouve au niveau de la chaîne légère certainement avec un pentadécapeptide en partie N-terminale. En réalité le facteur VIII:C est très instable dans la circulation sanguine où l'exposition à de nombreuses réactions enzymatiques provoquent sa protéolyse c'est la raison pour laquelle il est associé au vWF. D'autre part l'interaction facteur VIII-vWF empêche la liaison prématurée du facteur VIII sur les composants du complexe activateur du facteur X (l'affinité du facteur VIII est cent fois plus importante pour le vWf que pour le facteur IX). Enfin le vWF stabilise la structure hétérodimérique du facteur VIII. *In vivo*, le ratio facteur VIII / vWF est de 1/50 [170].

Le facteur VIII est un complexe composé du facteur VIII:C, du vWF mais également d'un facteur VIII antigénique (VIII:Ag) de gros poids moléculaire à l'origine de l'antigénicité globale mais dont on sait peu de choses [183].

L'analyse de la séquence d'acide aminé du facteur VIII:C montre la répétition de certaines séquences : une séquence A d'environ 350 acides aminés se répète trois fois ainsi qu'une séquence C deux fois (structure A1-a1-A2-B-a2-a3-A3-C1-C2).

Il est synthétisé au niveau des hépatocytes mais aussi dans d'autres organes comme la rate ou le rein. L'ARNm du facteur VIII:C a été retrouvé également au niveau des cellules lymphoïdes. Toutefois la plupart des études considèrent la rate comme un organe de stockage du facteur VIII.

La concentration plasmatique est comprise entre 50 et 150 ng/mL chez le Chien ; sa demi-vie, *in vivo*, est de 6 à 14 heures.

Il a été montré chez l'Homme que le taux sanguin d'activité du facteur VIII peut être modifié par un certain nombre de facteurs internes ou externes [183] :

- l'exercice musculaire provoque une augmentation rapide mais transitoire du facteur VIII:C dont le niveau d'activité initiale peut se trouver doubler ou tripler (libération de

facteur VIII par la rate ?). Contrairement à l'Homme il semblerait que chez le Chien l'exercice n'augmente pas la teneur plasmatique en facteur VIII [212],

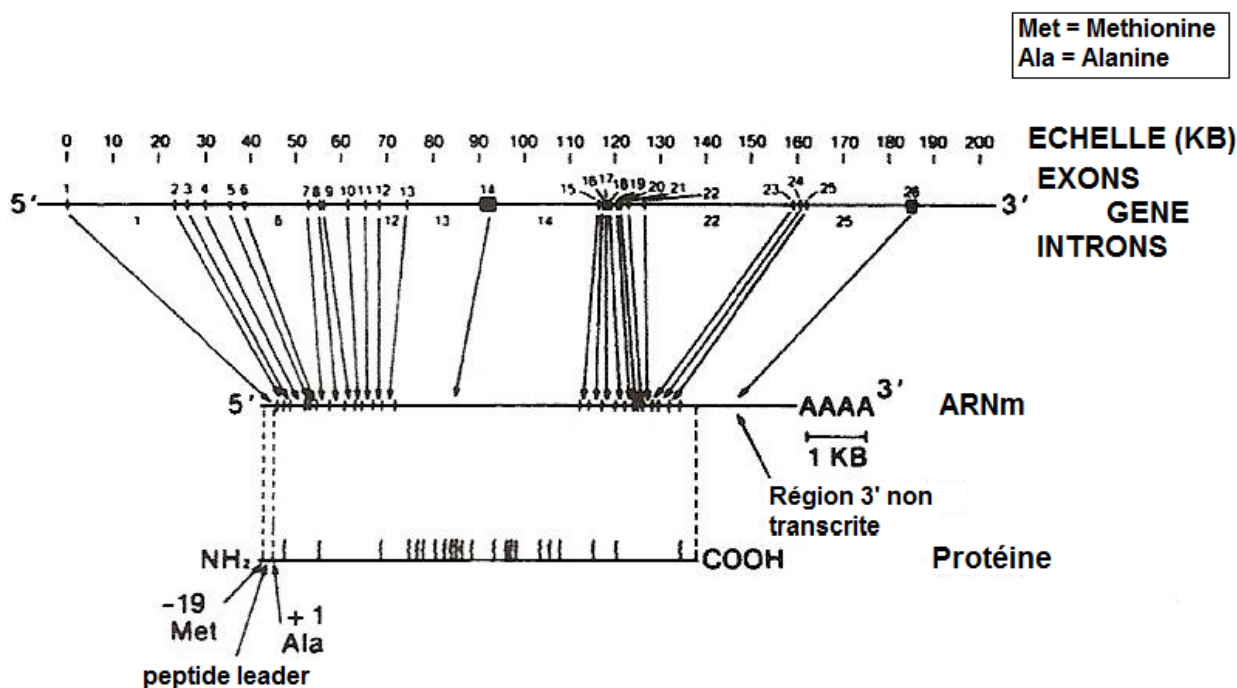
- l'injection d'adrénaline provoque une augmentation identique, inhibée par les  $\beta$ -bloquants,
- la stimulation du système nerveux central (électrochoc) ou celle de l'hypothalamus entraîne une augmentation de l'activité du facteur VIII:C,
- la fièvre, les interventions chirurgicales, la stase veineuse, la gestation, les progestatifs de synthèse, les traitements anticoagulants, les corticoïdes sont également associés à une élévation de l'activité du facteur VIII:C.

Chez le Chien, l'activité du facteur VIII augmente avec l'âge de l'animal. Ainsi il a été montré que cette activité est plus faible chez le chiot [16]. Le stress est également à l'origine d'une augmentation de cette activité suite à la splénocontraction induite [91]. Enfin une étude sur 12 chiennes a montré une augmentation significative de l'activité du facteur VIII à partir de la troisième semaine de gestation et ce jusqu'à la mise-bas [131].

Le gène intervenant dans la synthèse du facteur VIII est situé à l'extrémité du bras long du chromosome X chez tous les mammifères en position Xq28 [177]. Il comprend, chez l'Homme, près de 186 000 paires de bases ce qui représente environ 0,1 % du chromosome X. L'ARN messager (ARN<sub>m</sub>) est constitué à partir de 26 exons, de taille variant entre 69 et 3 106 paires de bases. Les 25 introns séparant les exons ont, au niveau de l'ADN, une taille variant de 207 à 32 400 paires de base. Le gène complet est donc constitué d'environ 9 kilobases d'exons et de 177 kilobases d'introns [222].

La traduction de l'ARN<sub>m</sub> commence probablement au niveau du 170<sup>ème</sup> nucléotide du côté 5' de la molécule (Figure 8). Après une séquence GATAAA requise pour initier la transcription (séquence « ATA »), cette région non traduite est suivie d'une région codant pour 2 351 acides aminés comprenant notamment 19 acides aminés hydrophobes correspondant au peptide-signal qui est ensuite excisé lors de la maturation protéique. Enfin la région non traduite du côté 3' contient 1 805 nucléotides de long et contient des répétitions AATAAA et CATTG puis se termine par une queue poly-A de 1 kilobases.

Figure 8. Facteur VIII : De l'ADN à la protéine [222]



**Légende :** la figure montre la transcription de l'ADN du gène codant pour le facteur VIII en ARNm puis la traduction de celui-ci en protéine.

La molécule est ensuite protéolysée dans les hépatocytes ce qui produit une molécule bicaténaire.

L'activation du facteur VIII est permise par le facteur Xa et la thrombine qui le clive en 3 sites. La thrombine rompt le facteur VIII en arginine 1689 de la chaîne légère et en arginine 372 et arginine 740 de la chaîne lourde. Quant au facteur Xa, il le clive en arginine 336, arginine 372 et arginine 740. Ce clivage permet la libération de la partie centrale de 170 kDa et la formation d'un tripeptide actif. Il est à noter que le facteur VIIIa obtenu par clivage par le facteur Xa aurait une activité moindre que celui obtenu par la thrombine.

Le facteur VIIIa est un cofacteur du facteur IXa, des phospholipides (dont le *Platelet Factor 3*) et du calcium. Le complexe ainsi formé permet l'activation du facteur X.

L'inhibition du facteur antihémophilique est permise par la plasmine et par le complexe PCa-SV (*Protein C activator*).

### 9. Facteur IX

Le facteur IX (ou facteur Christmas) est une sérine protéase de 62 kDa de poids moléculaire. Sa concentration plasmatique est de 4 µg/mL chez le chien, sa demi-vie est de 20 heures et son *turnover* est de 2 µg/mL/jour. Il intervient au sein du complexe ténase (VIIIa-IXa-PF3-Ca) pour activer le facteur X. Sa synthèse a lieu au niveau des hépatocytes et est vitamine K-dépendante. Il est constitué d'un domaine GLA, de 2 domaines EGF, d'un domaine d'activation et d'un domaine sérine protéase [170].

Le gène codant pour le facteur IX est présent, chez l'Homme, sur le chromosome X en Xq26-q27. Il occupe 33,5 kilobases et comporte 8 exons.

Le facteur IX est clivé par le facteur XIa en une molécule, le facteur IXa, de 2 chaînes réunies par des ponts disulfures. Il peut également être activé par le facteur VIIa, la kallikréine ou encore le facteur Xa. Le facteur IX est en compétition avec le facteur X pour le site actif du facteur VIIa.

Le facteur IXa est inhibé par l'antithrombine III. La transformation du facteur IX en IXa est inhibée par la protéase nexine II [170].

### 10. Facteur X

Le facteur X (ou facteur Stuart-Prower) est une sérine protéase vitamine K-dépendante de poids moléculaire de 59 kDa, synthétisée dans le foie sous forme d'un précurseur de 488 acides aminés. Avant la sécrétion, 40 acides aminés sont excisés et les 11 premiers acides glutamiques sont carboxylés. Il en résulte un zymogène à deux chaînes : une chaîne légère de 139 acides aminés et une chaîne lourde de 306 acides aminés reliée par un pont disulfure [170].

Sa concentration plasmatique est comprise entre 7 et 17 mg/L chez l'Homme et est de 5 mg/L chez le Chien, sa demi-vie est de 65 heures et son *turnover* de 6 µg/mL/jour.

Chez l'Homme le gène a été localisé sur le chromosome 13 en position 13q34 et contient 9 exons.

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

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

Le rôle du facteur Xa est de former avec le facteur Va, le PF3 et le calcium le complexe prothrombinase à l'origine de la formation de thrombine. Le facteur Xa est également un activateur de la protéine C [170].

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

## 11. Facteur XI

Le facteur XI ou *plasma thromboplastin antecedent* ou facteur Rosenthal, est une glycoprotéine formée de 2 chaînes et dont le poids moléculaire est de 200 kDa chez le Chien (160 kDa chez l'Homme). Chez le Chien, sa concentration plasmatique est de 4 µg/mL, sa demi-vie de 65 heures et son *turnover* est inférieur à 2 µg/mL/jour. Il est synthétisé par les hépatocytes. Il comporte 4 domaines dits *apple* : A1 à A4, qui sont les sites d'interaction avec les différents ligands. Le facteur XI circule dans le plasma en complexe avec le HMW-kininogène (kininogène de haut poids moléculaire) afin de faciliter sa liaison avec les surfaces négatives et son interaction avec le facteur XIIa. Il existe aussi une forme de facteur XI plaquettaire chez l'Homme qui représente 0,5 % de son activité totale ; son poids moléculaire est de 220 kDa et il est dû à l'épissage alternatif du gène (absence de l'exon V). On retrouve l'ARNm de ce facteur XI au niveau des mégacaryocytes et des plaquettes [170].

Le gène codant pour le facteur XI se trouve sur le chromosome 4 en position 4q35 chez l'Homme. Il comprend 16 exons codant pour la synthèse d'une protéine de 607 acides aminés dont la dimérisation est nécessaire pour une biosynthèse normale.

Le facteur XI est essentiellement activé par la thrombine. En effet, la coagulation est déclenchée par le facteur III suite à la présence d'une brèche vasculaire ce qui induit les activations consécutives du facteur VII, du facteur X et pour finir de la prothrombine par la voie extrinsèque. La thrombine active alors les facteurs V et VIII ce qui par rétroactivation permet l'activation du facteur XI ou facteur XIa [170].

Le facteur XI possède également une action antifibrinolytique par son activation du TAFI (*Thrombin Activator Fibrinolysis Inhibitor*).

## 12. Facteur XII

Le facteur XII ou facteur Hageman est une glycoprotéine qui s'autoactive au contact de surfaces chargés négativement. Chez l'Homme c'est une glycoprotéine de 80 kDa dont la demi-vie plasmatique est de 60 heures. Sa concentration plasmatique est d'environ 4 µg/mL et son *turnover* est inférieur à 2 µg/mL/jour. Le facteur intervient dans la voie intrinsèque de la coagulation et active le facteur XI et la prékallikréine [170].

Le facteur XII joue également un rôle de promoteur dans l'activation du complément, dans l'inflammation, dans la fibrinolyse et dans les modifications de perméabilité vasculaire [22].

Le gène humain codant pour le facteur XII a été localisé que le chromosome 5 en position 5q35.

Le facteur Hageman est activé par la prékallikréine en  $\alpha$ XIIa puis un deuxième clivage par la kallikréine le transforme en  $\beta$ XIIa.

## 13. Facteur XIII

Le facteur XIII ou facteur stabilisateur de la fibrine est une transglutaminase qui agit sur les polymères de fibrine en y créant des liaisons covalentes afin de les renforcer et de les stabiliser en les rendant notamment moins sensible à la plasmine. Sa synthèse est assurée par les hépatocytes et les mégacaryocytes. Le facteur XIII est une glycoprotéine de 320 kDa dont la concentration plasmatique est de 10 µg/mL, la demi-vie de 150 heures et le *turnover* de 3 µg/mL/jour chez l'Homme. Chez l'Homme, sa concentration plasmatique augmente avec l'âge, le sexe (femme > homme) et le tabac. Il circule sous la forme d'un tétramère constitué de deux sous-unités A et de deux sous-unités B.

Chez l'Homme, le gène codant pour la partie A est présent sur le chromosome 6 en position 6p24-25 et comporte 15 exons. Quant au gène codant pour la partie B, il est intégré au chromosome 1 en position 1q32-32.1 et comporte 12 exons [170].



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

Le facteur XIIIa permet la création de ponts  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl)lysine, qui est une liaison covalente responsable en particulier du « *cross-linking* ». Le « *cross-linking* » est la création de liaison covalente entre les monomères de fibrine et d'autres molécules telles que la fibronectine, l' $\alpha$ 2-antiplasmine ou le collagène. Le facteur XIIIa favorise ainsi la résistance mécanique de la fibrine. Il joue également un rôle dans le maintien de la grossesse chez la femme.

#### 14. Prékallicroïne

La prékallicrine ou facteur Fletcher est une glycoprotéine à simple chaîne de 85 kDa dont le rôle est d'activer le facteur XII et plus faiblement le facteur IX. Sa concentration plasmatique est de 25 à 50 mg/L chez l'Homme. Chez le Chien, sa demi-vie est de 35 heures. Elle est synthétisée au niveau du foie. La forme active comporte deux types de chaîne : une chaîne lourde et une chaîne légère. Il circule dans le plasma liée au HMW-kininogène par sa chaîne lourde, la chaîne légère contenant le site actif [185].

Chez l'Homme, le gène codant pour la prékallicrine est situé sur le chromosome 4 en position 4q34-35 et est constitué de 22 kilobases [170].

Son activation est permise par l'action de  $\alpha$ XIIa et  $\beta$ XIIa qui donne une molécule de kallicrine à 2 chaînes. La kallicrine active alors le facteur XII à une vitesse mille fois supérieure à l'autoactivation ; elle intervient sur l'activation du HMW-kininogène et du facteur VII. Enfin elle joue aussi un rôle dans la fibrinolyse par son activation de la pro-urokinase en urokinase.

#### 15. HMW(*High Molecular Weight*)-kininogène

Le HMW-kininogène (HMWK), ou facteur Fitzgerald, Flaujeac ou Williams, est une protéine de poids moléculaire égal à 120 kDa. Sa synthèse a lieu au niveau du foie. Sa concentration plasmatique est comprise entre 60 et 90 mg/L chez l'Homme. Chez le Chien, sa demi-vie est d'environ 156 heures.

Le gène codant pour la HMW-kininogène est localisé, chez l'Homme, sur le chromosome 3 en position 3q27 [170].

Le HMWK est clivé, par la kallibréine, en kininogènes qui sont représentés par la bradykinine et une chaîne légère qui se lie au facteur XI. Un clivage lent est aussi possible par l'action de  $\alpha$ XIIa. La bradykinine est un nonapeptide qui est le stimulant physiologique le plus puissant du tPA (*tissue Plasminogen Activator*) et qui augmente la sécrétion de prostacycline par les cellules endothéliales. Les kininogènes sont également des inhibiteurs de l'activation plaquettaire et de la thrombine [170].

Le facteur XIa, par le clivage de la chaîne légère, entraîne l'inhibition du kininogène.

## 16. Autres acteurs intervenant dans la coagulation

### a. Facteurs permettant la coagulation

#### *$\alpha$ . Facteur plaquettaire 3*

Le facteur plaquettaire 3 (PF-3) est une phospholipoprotéine chargée négativement présente au sein de la membrane plaquettaire qui, en présence de calcium, permet la fixation de nombreux facteurs notamment au sein du complexe prothrombinase [170].

#### *$\beta$ . Facteur plaquettaire 4*

Le facteur plaquettaire 4 (PF-4) ou facteur antihéparinique est un facteur contenu au sein des granules  $\alpha$  des thrombocytes. Il est libéré lors du *release* plaquettaire (sécrétion plaquettaire). Il permet l'inhibition de l'héparine [170].

### b. Inhibiteurs de la coagulation [170]

#### *$\alpha$ . Antithrombine III*

L'antithrombine III est le principal agent inhibiteur de la coagulation retrouvé dans le plasma. C'est une  $\alpha_2$ -glycoprotéine synthétisée par le foie. Chez l'Homme, sa concentration plasmatique est comprise entre 180 et 300 mg/L et sa demi-vie est d'environ 60 heures.

Chez l'Homme, le gène codant pour l'antithrombine a été localisé sur le chromosome 1 en position 1q23-25 et comporte 7 exons. Les glucocorticoïdes stimulent son expression alors que les œstrogènes la diminuent [170].

Cette molécule est à l'origine de la désactivation des facteurs IIa, IXa, Xa, XIa et XIIa. Elle agit également contre la plasmine et la kallikréine. Son action est potentialisée par la présence d'héparine. L'activité de l'antithrombine III chez le Chien et chez le Chat équivaut à environ 65 % de l'activité de l'antithrombine III équine [170].

### *β. Héparine*

L'héparine est une molécule faisant partie des glycosaminoglycanes aux propriétés anticoagulantes très puissantes. Elle agit comme un démultiplicateur de l'action de l'antithrombine III avec laquelle elle interagit. Elle est présente au niveau des tissus conjonctifs chez l'Homme et chez les animaux. Elle est notamment sécrétée par les mastocytes lors de la réaction inflammatoire [170].

### *γ. Protéine C*

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

Le gène codant pour la protéine C est localisé chez l'Homme sur le chromosome 2 en position 2q13-14 [170].

La protéine C activée permet le clivage des facteurs Va et VIIIa. La protéine C activée diminue donc la formation de thrombine et par la même diminue la formation de TAFI (*Thrombin-Activable Fibrin Inhibitor*) et donc augmente la fibrinolyse. La protéine S agit comme un cofacteur de la protéine C activée et augmente la vitesse de dégradation du facteur Va [170].

#### *δ. Protéine S*

La protéine S est une glycoprotéine à simple chaîne vitamine-K dépendante et de poids moléculaire égal à 70 kDa. Elle est synthétisée et sécrétée par les cellules endothéliales puis se lie à leur surface. Elle est complexée à 60 % dans le plasma par la *C4b Binding Protein* sous une forme qui la rend inactive.

Chez l'Homme c'est le chromosome 3 en position 3q11.1-11.2 qui porte le gène codant pour la protéine S [170].

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

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

La thrombine permet l'inactivation de la protéine S par clivage.

#### *ε. Inhibiteur de la C'1 estérase*

L'inhibiteur de la C'1 estérase est une glycoprotéine plasmatique de 104 kDa qui possède une activité inhibitrice vis-à-vis des facteurs XIa et XIIa, de la kallikréine et de la plasmine. Il est également présent au sein des granules  $\alpha$  plaquettaire et est relargué lors de leur activation.

Le gène codant pour l'inhibiteur de la C'1 estérase est situé sur le chromosome 11 et comporte 8 exons chez l'Homme.

La thrombine et la plasmine ont un effet inhibiteur sur cette molécule.

#### *ζ. $\alpha_1$ -antitrypsine*

L' $\alpha_1$ -antitrypsine est une  $\alpha$ -globuline présente dans le plasma et les plaquettes. C'est l'inhibiteur majeur de la trypsine mais il possède également un effet inhibiteur sur la chymotrypsine, l'urokinase, la plasmine et les facteurs Xa et XIa.

#### *η. $\alpha_2$ -macroglobuline*

L' $\alpha_2$ -macroglobuline est une glycoprotéine estérase plasmatique de 725 kDa qui inhibe la thrombine, la plasmine et la kallikréine. Elle représente 25 % de la capacité plasmatique d'inhibition de la thrombine. Chez l'Homme sa concentration plasmatique est comprise entre 1,3 et 3,3 g/L. Elle est synthétisée par les cellules endothéliales sur lesquelles elle reste liée.

L' $\alpha_2$ -macroglobuline se lie avec la thrombine qui devient alors incapable de se lier avec le fibrinogène et elle entre en compétition avec l'antithrombine III. Le complexe  $\alpha_2$ -macroglobuline/thrombine est capable de cliver le facteur VIII. Enfin l' $\alpha_2$ -macroglobuline est un faible inhibiteur de la protéine C activé.

#### *θ. $\alpha_2$ -antiplasmine*

L' $\alpha_2$ -antiplasmine est une  $\alpha_2$ -glycoprotéine capable d'inactiver la plasmine et l'urokinase mais aucun autre facteur de la coagulation.

#### *ι. Cofacteur II de l'héparine*

Le cofacteur II de l'héparine forme un complexe covalent avec la thrombine à l'origine de son activité anticoagulatoire. Son action inhibitrice est favorisée par l'héparine à doses élevées, l'héparane et le dermatane sulfate. Il est synthétisé par le foie et sa concentration plasmatique est, chez l'Homme, d'environ 90 mg/L.

Les différents facteurs de la coagulation sont rassemblés dans le tableau 1

Tableau 1. Propriétés des facteurs de la coagulation chez l'Homme.

Facteur	Nom commun	Poids moléculaire (Dalton)	Taux plasmatique (µg/mL)	Demi-vie (heures)	Turnover (µg/mL/jour)	Lieu de biosynthèse	Dépendant de la vitamine K
I	Fibrinogène	340 000	2 500	123	500	Hépatocytes, mégacaryocytes	Non
II	Prothrombine	70 000	100	100	40	Hépatocytes	Oui
III	Thromboplastine tissulaire	45 000	0	-	-	Tous les tissus	Non
IV	Calcium	-	-	-	-	-	Non
V	Proaccéléline	330 000	5 – 12	25	10	Hépatocytes, macrophages	Non
VI	Accéléline	-	-	-	-	A partir du facteur V	Non
VII	Proconvertine	63 000	1	5	2	Hépatocytes	Oui
VIII	Facteur antihémophilique	1 – 2 000 000	7	10	25	Hépatocytes, cellules endothéliales et mégacaryocytes	Non
IX	Facteur Christmas	62 000	4	20	2	Hépatocytes	Oui
X	Facteur Stuart-Prower	59 000	5	65	6	Hépatocytes	Oui
XI	Facteur Rosenthal	200 000	4	65	< 2	Hépatocytes	Non
XII	Facteur Hageman	80 000	29	60	< 2	Hépatocytes	Non
XIII	Facteur stabilisateur de la fibrine	320 000	10	150	3	Hépatocytes, mégacaryocytes	Non
	Prékallikréine	85 000	-	35	-	Hépatocytes	Non
	Kininogène de haut poids moléculaire	120 000	-	156	-	Hépatocytes	Non

## B. LES DIFFÉRENTES ÉTAPES DE LA COAGULATION

Il existe 2 voies parallèles d'initiation de la coagulation, qui se rejoignent lors de l'activation du facteur X : les voies intrinsèque et extrinsèque.

### 1. La voie intrinsèque de la coagulation

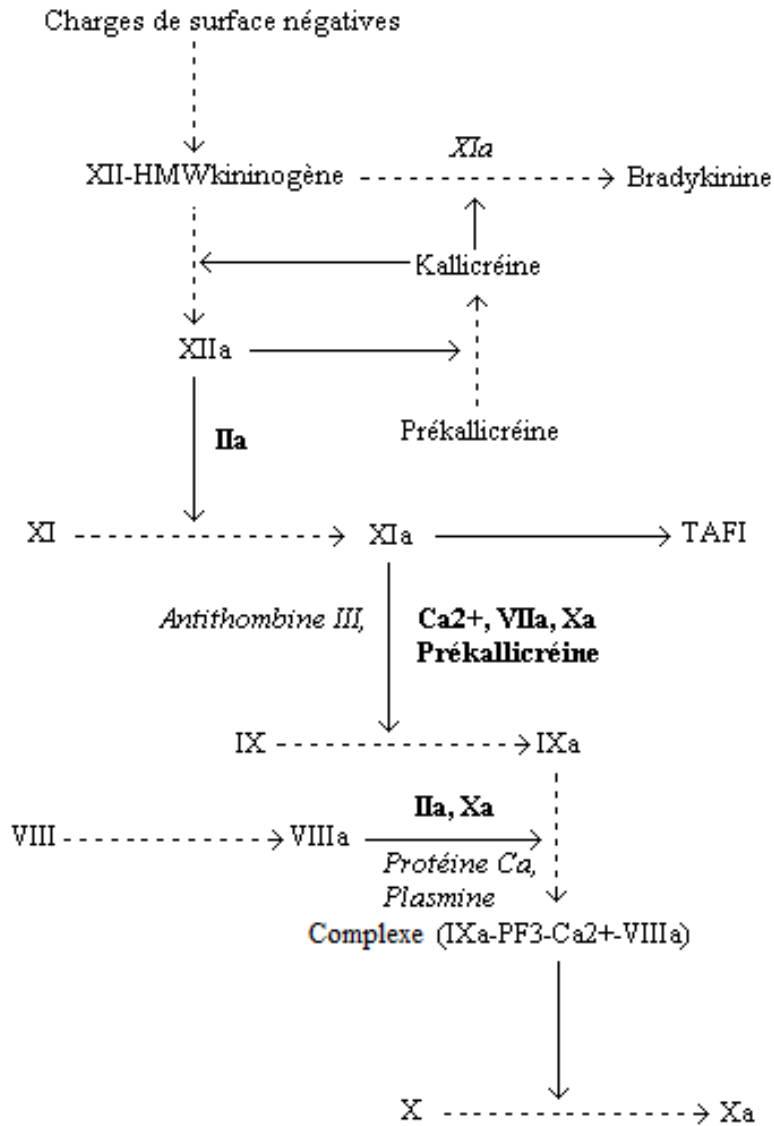
Tous les facteurs intervenant dans cette voie de coagulation sont des éléments appartenant au sang, à savoir des précurseurs plasmatiques ou plaquettaires. C'est le contact de ses éléments avec la paroi lésée qui est à l'origine de la voie intrinsèque de la coagulation.

Le facteur XII, à l'origine de cette voie, est activé par toute surface « mouillable », la présence d'une surface chargée négativement entraînant des changements de la conformation du facteur XII permettant son activation. Le facteur XIIa va alors permettre l'activation de la prékallicréine et du facteur XI. En parallèle le HMW-kininogène est également activé en bradykinine.

Le facteur XIa est à l'origine de la cascade enzymatique aboutissant à l'activation du facteur X. En effet l'activation du facteur IX et du facteur VIII permet la formation d'un complexe enzymatique permettant la transformation du facteur X en facteur Xa.

La voie intrinsèque de la coagulation est schématisée dans la figure 9.

Figure 9. Voie intrinsèque de la coagulation



**Légende :**

- - - - - > Indique l'activation d'un facteur .
- ———▶ Indique un effet agoniste d'un facteur sur l'autre ou un effet agoniste sur l'activation d'un facteur.
- Les autres facteurs intervenant dans la voie sont indiqués à côté des flèches pleines ; en gras les agonistes et en italique les antagonistes.
- VII, VIII, X, XI, XII = facteur VII, VIII, X, XI, XII (a = activé).
- TAFI = Inhibiteur de la Fibrinolyse Activé par la Thrombine.
- HWK-kininogène = kininogène de haut poids moléculaire.

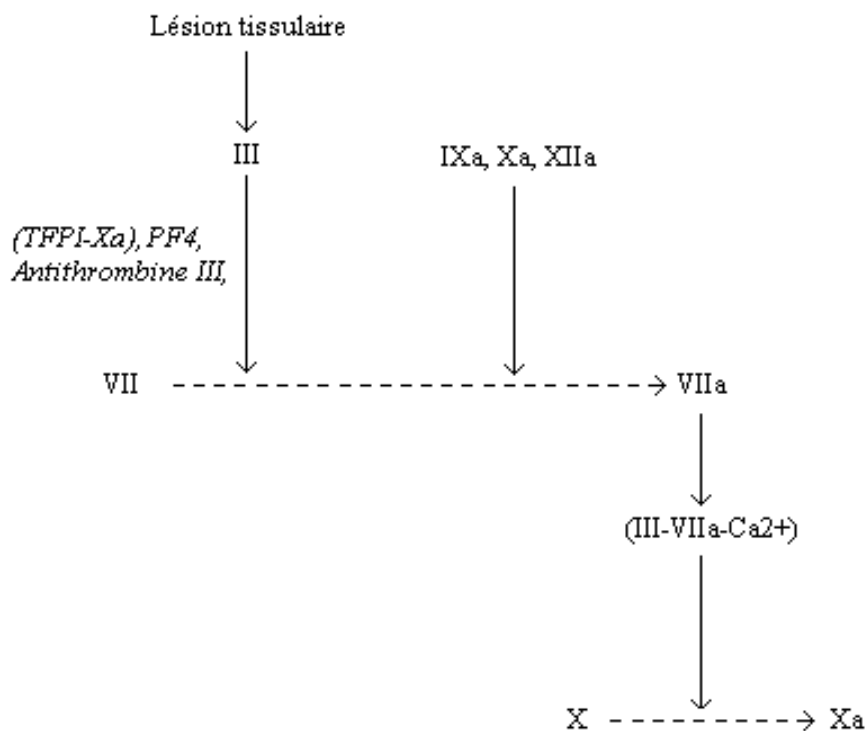
2. La voie extrinsèque de la coagulation



La voie extrinsèque de la coagulation nécessite la présence du facteur tissulaire (ou facteur III) qui est libéré par les tissus lésés. La libération de cette substance permet alors l'activation du facteur VII. En se complexant avec le facteur III et le calcium, le facteur VIIa permet l'activation du facteur X (Figure 10).

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

Figure 10. La voie extrinsèque de la coagulation



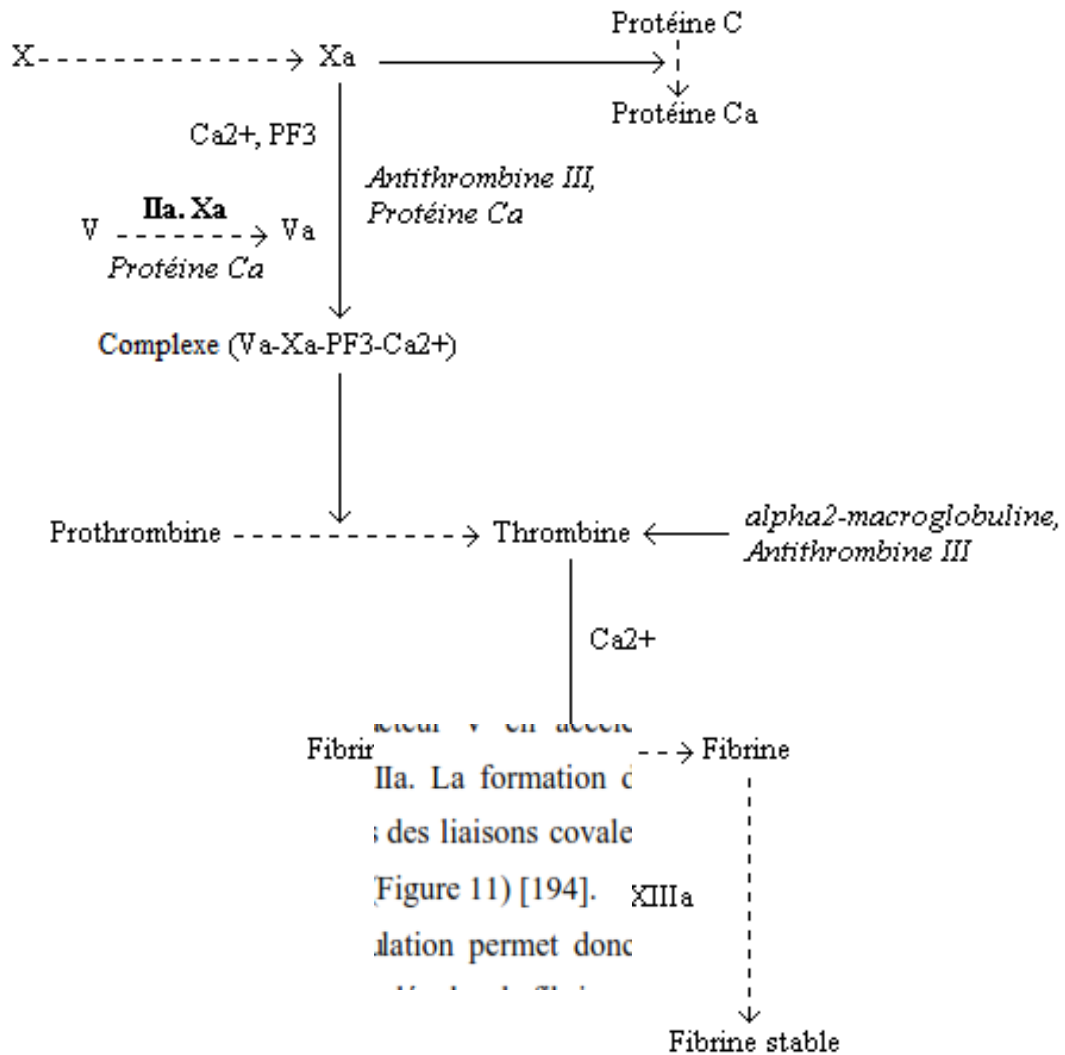
**Légende :**

- - - - - > Indique l'activation d'un facteur .
- —————> Indique un effet agoniste d'un facteur sur l'autre ou un effet agoniste sur l'activation d'un facteur.
- Les autres facteurs intervenant dans la voie sont indiqués à côté des flèches pleines ; en gras les agonistes et en italique les antagonistes.
- VII, VIII, X, XI, XII = facteur VII, VIII, X, XI, XII (a = activé).
- TAFI = Inhibiteur de la Fibrinolyse Activé par la Thrombine.
- HWK-kininogène = kininogène de haut poids moléculaire

TFPI = *Tissue Factor Pathway Inhibitor*

3. La voie commune de la coagulation

Figure 11. La voie commune de la coagulation



**Légende :**

- - - - - > Indique l'activation d'un facteur.
- ———▶ Indique un effet agoniste d'un facteur sur l'autre ou un effet agoniste sur l'activation d'un facteur.
- Les autres facteurs intervenant dans la voie sont indiqués à côté des flèches pleines ; en gras les agonistes et en italique les antagonistes.
- VII, VIII, X, XI, XII = facteur VII, VIII, X, XI, XII (a = activé).
- TAFI = Inhibiteur de la Fibrinolyse Activé par la Thrombine.
- HWK-kininogène = kininogène de haut poids moléculaire.