

UNIVERSITÉ MOHAMMED V-RABAT
FACULTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNEE : 2016

THÈSE N° : 44

LE FACTEUR VON WILLEBRAND ET LA GROSSESSE
ETUDE PROSPECTIVE CHEZ 390 FEMMES ENCEINTES.

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le:.....2016

PAR

Mr Hassane MAMAD

Né le 01 Août 1990 à Figuig

Pour l'Obtention du Doctorat en pharmacie

MOTS CLES : Hémostasie - Facteur Von Willebrand - Maladie de Willebrand - Grossesse.

MEMBRES DE JURY

Mr. M. EL KHORASSANI

Professeur de Pédiatrie

Mr. A. MASRAR

Professeur d'Hématologie biologique

Mr. A. CHENGUITI ANSARI

Professeur de Gynécologie Obstétrique

Mr. A.DAMI

Professeur de Biochimie

Mme. S. BENKIRANE

Professeur d'Hématologie biologique

PRÉSIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا
إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة الآية: 31

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif Chirurgie Thoracique

Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI Rhumatologie

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz Médecine Interne – *Clinique Royale*
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima Cardiologie
Pr. BENSALID Younes Pathologie Chirurgicale
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne –*Doyen de la FMPR*
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation –*Doyen de la FMPO*
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – *Dir. du Centre National PV*

Pr. TAOUFIK Jamal

Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUADA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- *Directeur CHIS*
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali

Urologie
Chirurgie Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique

Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbas
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - *Dir. HMIMV*
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation

Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation **inspecteur SS**
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie

Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAB Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 Pr. AMEUR Ahmed *
 Pr. AMRI Rachida
 Pr. AOURARH Aziz*
 Pr. BAMOU Youssef *
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. EL MANSARI Omar*
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. IKEN Ali
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. LAGHMARI Mina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 Pr. RHOU Hakima
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*
 Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie

Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOURIK Fatima
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENHALIMA Hanane
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najja

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie (mise en disponibilité)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie

Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. ESSAMRI Wafaa
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. GHADOUANE Mohammed*
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid

O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
ORL
Parasitologie
Anesthésie réanimation **directeur ERSSM**
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation

Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GANA Rachid
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MOUTAJ Redouane *
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMAHZOUNE Brahim*
Pr. AMINE Bouchra

Psychiatrie
Neuro chirurgie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Rhumatologie

Pr. ARKHA Yassir
Pr. AZENDOUR Hicham*
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. ZOUHAIR Said*

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem

Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Microbiologie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-physiologie
Microbiologie

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie

Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. LEZREK Mounir
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSEFFAJ Nadia
Pr. BENSghIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare

Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Ophtalmologie
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologiebiologique
Informatique Pharmaceutique
Immunologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie

Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAICHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERRGUIG Laila
Pr. FIKRI Meryim
Pr. GHANIMI Zineb
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
Pr. MEDDAH Bouchra
Pr. MELHAOUI Adyl
Pr. MRABTI Hind
Pr. NEJJARI Rachid
Pr. OUBEJJA Houda
Pr. OUKABLI Mohamed*
Pr. RAHALI Younes
Pr. RATBI Ilham
Pr. RAHMANI Mounia
Pr. REDA Karim*
Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUIBAA Fedoua*
Pr. SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan*
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
Pr. GHOUNDALE Omar*
Pr. ZYANI Mohammad*

Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie
Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie
Radiologie
Pédiatrie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Pharmacologie
Neuro-chirurgie
Oncologie Médicale
Pharmacognosie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Pharmacie Galénique
Génétique
Neurologie
Ophtalmologie
Neurologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Urologie
Médecine Interne

**Enseignants Militaires*

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M’hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015



Dédicaces



Je dédie cette thèse à...

A mes très chers parents

Mohamed et Fatima

*Aucune expression, ni aucune dédicace ne pourrait exprimer mes
meilleures reconnaissances.*

*Vous avez guidé mes premiers pas, et vous étiez toujours une source
intarissable d'amour et de sacrifice.*

*J'espère réaliser en ce jour un de vos rêves, et être digne, toute ma
vie personnelle et professionnelle, de votre éducation et de votre
confiance.*

Puisse Dieu vous protéger, vous accorder santé et longue vie.

*A mes très Chers Frères Mohamed, Rachid, Omar, Mustapha,
Brahim et Abderrazak*

*En témoignage des profonds liens fraternels qui nous unissent. Ces
quelques lignes ne sauront exprimer toute l'affection et l'amour que je
vous porte. Puisse dieu vous procurer santé, bonheur, et prospérité
que vous méritiez.*

A tous mes oncles et mes cousins

*Que ce travail puisse vous exprimer mon profond attachement, mon
amour et mon respect.*

Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.

A Toute la famille MAMAD

A mes très chers amis

*Redouane, Chaïma, Abderahim, Youssef, Anasse, Karim, Ayoub,
Yassine, Zineb, Mohammed, Mohammed, Dr Sara MAI, Hajar, Jihane,
Ghizlane, Yassine, Fayçal, Tarik, ..*

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous
exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des
confrères sur qui je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs de
tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce
travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

À tous mes amis et camarades de promotion

*À tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail
et toute l'équipe du laboratoire d'hématologie*

Mme Zakia, Milouda, Yasmine, Fatimazohra, Abdessamad, Jamal...

*Au nom de notre tendre complicité et en souvenir de tous ces
moments qu'on a passé ensemble, je vous offre ce travail en
témoignage de mon immense affection.*

À Dr. Sara MAI

*De très sincères remerciements pour votre gentillesse et
toute l'aide que vous nous avez apportée pour réussir ce travail.*

Remerciements



A Allah

Tout puissant

Qui m'a inspiré

Qui m'a guidé dans le bon chemin

Je vous dois ce que je suis devenue

Louanges et remerciements

Pour votre clémence et miséricorde.

A

***NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE
MONSIEUR LE PROFESSEUR MOHAMED EL KHORASSANI
PROFESSEUR DE PEDIATRIE***

*Vous nous avez accordé un immense honneur
et un grand privilège en acceptant la présidence de notre jury de
thèse.*

*Nous vous remercions aussi pour la gentillesse
et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce
travail.*

*Nous vous prions, cher Maître, d'accepter dans ce travail le
témoignage de notre haute considération,
de notre profonde reconnaissance et de notre sincère respect.*

A

NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

MR. LE PROFESSEUR AZLARAB MASRAR

PROFESSEUR D'HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE

Merci pour m'avoir accueilli dans votre service et pour m'avoir accepté ce sujet de thèse, pour la confiance que vous m'avez accordée du début à la fin du travail et pour votre disponibilité.

Vous n'avez jamais lésiné ni sur votre temps ni sur votre savoir tout le long de ce travail.

Merci pour votre soutien, votre patience, vos encouragements et votre optimisme infaillible, merci d'avoir trouvé les mots qu'il faut aux moments qu'il faut.

Je n'oublie pas enfin votre aide précieuse dans la relecture et la correction de ma thèse.

Je vous prie de trouver ici, cher Professeur, le témoignage de ma profonde reconnaissance et de mon immense respect.

A

NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

Mr. LE PROFESSEUR ANAS CHENGUITI ANSARI

PROFESSEUR DE GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE

Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Votre compétence, votre dynamisme, ainsi que vos qualités humaines et professionnelles exemplaires ont toujours suscité notre admiration.

Qu'il soit permis, cher maître, de vous exprimer notre sincère reconnaissance, notre profond respect et notre plus grande estime

A

NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE
Mr. LE PROFESSEUR ABDALLAH DAMI
PROFESSEUR DE BIOCHIMIE

*Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous
faites en acceptant de juger ce travail.*

*Votre compétence, votre dynamisme, ainsi que vos qualités
humaines et professionnelles exemplaires ont toujours suscité
notre admiration.*

*Qu'il soit permis, cher maître, de vous exprimer notre sincère
reconnaissance, notre profond respect et notre plus grande
estime.*

A

NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE
MADAME LE PROFESSEUR SOUAD BENKIRANE
PROFESSEUR D'HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE

Nous vous remercions vivement pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Nous sommes très sensibles à votre gentillesse, votre accueil très aimable, votre volonté d'enseigner et à votre profonde humanité.

Que ce travail soit pour nous l'occasion de vous exprimer notre admiration ainsi que notre gratitude.

Veillez croire, chère maître, en nos sentiments les plus respectueux.



LISTE DES ABREVIATIONS

μl	Microlitre
aa	acide aminé
ADAMTS	A Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSpondin
ADP	Adénosine diphosphate
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
Arg	Arginine (acide aminé)
ARNm	Acide Ribonucleique messenger
Asp	Acide Aspartique (acide aminé)
Ca	Calcium
CaCl ₂	Chlorure de calcium
CV	Coefficient de variation
dDAVP	1 D-amino-8-D-arginine vasopressine (desmopressine)
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid (acide éthylène diamine tétraacétique)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
Fg	Fibrinogène
FIX	Facteur IX (Facteur antihémophilique B)
FVIII	Facteur VIII (Facteur antihémophilique A)
FVIIIa	Facteur VIII activé
FVIIIc	Facteur VIII coagulant
FX	Facteur X
FXa	Facteur X activé
FXIIIa	Facteur XIII activé
Gly	Glycine (acide aminé)
gpIb	glycoprotéine Ib
gpIIbIIIa	glycoprotéine IIb IIIa
Kb	Kilobase
KDa	KiloDalton
MV	maladie de Willebrand
PFA	Platelet Function Analyser
PM	Poids Moléculaire
PPP	Plasma Pauvre en Plaquettes
Pro-VWF	Pro-Facteur Von Willebrand
RIPA	Ristocetin induced platelet aggregation (agrégation plaquettaire induite par la ristocétine)
SA	Semaines d'aménorrhée
Ser	Serine
TCA	Temps de Céphaline avec Activateur
TO	Temps d'Occlusion
TP	Taux de prothrombine
TQ	Temps de Quick
TS	Temps de saignement

TVP	Thrombose Veineuse Profonde
vWF	Facteur Von Willebrand
vWF THPM	Facteur Von Willebrand Très Haut Poids Moléculaire
vWF : Act	Activité de Facteur Von Willebrand
vWF : Ag	Von Willebrand Factor Antigen (Antigène Facteur Von Willebrand
vVWF : CB	Von Willebrand Factor : Collagen Binding assay (capacité de liaison du vWF au collagène)
vWF : RCo	Von Willebrand Factor Ristocetin cofactor activity (activité cofacteur de la ristocétine du VWF)
vWFpp	Von Willebrand Factor pro-peptid (propéptide du vWF)
Zn	Zinc

LISTE DES FIGURES

Figure N°	Titre
1	Courbe d'étalonnage (de Thivolle) : la conversion du temps de Quick (TQ) en taux de Prothrombine (TP).
2	Mécanisme du dosage turbidimétrique du vWF
3	Image illustrant des microplaques utilisées pour le groupage ABO-RH
4	Représentation de différentes tranches d'âge des patients.
5	Répartition des patients selon les Taux de Prothrombine.
6	Répartition des patients selon les rapports TCA.
7	Répartition des patients selon les taux de Fibrinogène.
8	Répartition des patients selon les taux de l'activité de FVIII.
9	Répartition des patients selon les taux de l'activité de vWF.
10	La fréquence des phénotypes ABO chez la population étudiée.
11	La fréquence des phénotypes Rh chez la population étudiée.
12	Répartition des taux de vWF en fonction des tranches d'âge
13	Répartition des taux de vWF en fonction de TP.
14	Répartition des taux de vWF en fonction de rapport TCA.
15	Répartition des taux de vWF en fonction des taux de Fibrinogène.
16	Répartition des taux de vWF en fonction des taux de FVIII.
17	Répartition des taux de vWF en fonction du groupe sanguin ABO.
18-1	Corrélation entre les taux de vWF et FVIII.
18-2	Corrélation entre les taux de vWF et Fibrinogène.
19	Schéma des étapes de maturation du vWF et de ses sites fonctionnels.
20	Vue sur l'ensemble des résidus de cystéine pertinents de vWF.

21	Biosynthèse et emballage de vWF dans les corps de Weibl-Palade.
22	Modifications post-traductionnelles dans la cellule endothéliale : du pré-pro-VWF aux multimères de VWF
23	Structure de l'ADAMTS-13
24	Détail du clivage de VWF/ADAMTS13
25	Partitionnement du vWF propeptide et pro-vWF entre la voie de sécrétion constitutive et la voie de sécrétion régulée par les cellules endothéliales
26	Le rôle des petites GTPases dans l'exocytose des corps de Weibel Palade par les cellules endothéliales stimulée
27	Base moléculaire de l'adhésion plaquettaire
28	Base moléculaire de l'agrégation plaquettaire
29	Localisation des anomalies moléculaires dans les variants de la maladie de Willebrand
30	Mécanisme et étapes de l'obstruction progressive du flux au sein de l'analyseur PFA-100
31	Agrégation plaquettaire à différentes concentrations de la ristocétine
32	Distribution des multimères du vWF dans le plasma
33	Etude de la distribution des multimères du vWF selon la méthode de faible résolution et haute résolution
34	Organisation du dépistage et du typage de la maladie de Willebrand constitutionnelle

LISTE DE TABLEAUX

Tableau N°	Titre
I	Répartition des taux de vWF et FVIII en fonction du groupe sanguin ABO.
II	Récapitulatif des facteurs régulant la concentration plasmatique en vWF et mécanisme(s) associé(s)
III	Classification de la maladie de Willebrand
IV	Méthodes de dosage de l'activité vWF
V	Paramètres de l'hémostase augmentant ou restant stables pendant la grossesse et le post-partum (moyennes et valeurs extrêmes)
VI	Prévalence des phénotypes ABO chez la population marocaine.
VII	Prévalence des phénotypes ABO chez la population marocaine par rapport au reste du monde
VIII	Prévalences de l'antigène D dans différents échantillons de la population marocaine
IX	Prévalence de l'antigène D chez la population marocaine par rapport aux autres pays du monde

Sommaire

SOMMAIRE

A. INTRODUCTION.....	1
B. MATERIELS ET METHODES	3
I. MATERIELS	4
II. METHODES	4
1. Phase pré-analytique:	4
2. Phase analytique:	5
3. Analyse statistique :.....	8
C. RESULTATS.....	10
I- Répartition des patients selon les tranches d'âge	11
II- Répartition des patients selon les tests d'hémostase	12
III- Répartition des patientes selon la fréquence phénotypique ABO-RH	16
1- Système ABO.....	16
2- Système RH.....	17
IV- Répartition des taux de vWF en fonction des autres paramètres	18
1- vWF en fonction de l'âge	18
2- vWF en fonction du TP	19
3- vWF en fonction du rapport TCA	19
4- vWF en fonction du fibrinogène.....	20
5- vWF en fonction du FVIII.....	21
6- Répartition du vWF en fonction du groupe sanguin ABO	22
7- Répartition des taux de vWF et FVIII en fonction du groupe sanguin ABO	23
8- Corrélation entre les taux en vWF et en FVIII	24
9- Corrélation entre le VWF et Fibrinogène.....	24
D. DISCUSSION ET REVU DE LA LITTERATURE.....	25
I. FACTEUR DE VON WILLEBRAND	26
I.1. Structure et synthèse du facteur de Von Willebrand : <i>Du gène à la protéine</i>	26
I.2. Régulation des taux sanguins du facteur Von Willebrand	33
I.3. Rôle du facteur Von Willebrand	47
II. PHYSIOPATHOLOGIE, EPIDEMIOLOGIE ET CLASSIFICATION	55
1. Physiopathologie et épidémiologie	55
2. Classification.....	57

III. MANIFESTATIONS CLINIQUES	65
IV. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	67
IV.1. Tests de routine	67
IV.2. Tests spécifiques	70
IV.3. Tests discriminatifs et spécialisés	74
V. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL	81
V.1. Sujets normaux de groupe sanguin O	81
V.2. Syndrome de Willebrand acquis.....	81
V.3. Hémophilie A	82
V.4. Pseudo-maladie de Willebrand.....	82
VI. ATTITUDES THERAPEUTIQUES	83
VI.1. La Desmopressine	83
VI.2. Les concentrés plasmatiques de facteur Willebrand	84
VI.3. Traitements adjuvants	86
VII. DISCUSSION DE NOS RESULTATS	87
VII.1. Répartition des patients selon les tests d'hémostase	87
VII.2. Répartition des patients selon la fréquence phénotypique	89
VII.3. Répartition des taux de vWF en fonction des autres paramètres	93
CONCLUSION	97
RESUMES	99
Annexes.....	104
REFERENCES	108

A. Introduction

La maladie de Willebrand (MW) est une des plus fréquentes anomalies constitutionnelles de l'hémostase. Sa transmission est autosomique, généralement dominante. Elle est liée à une anomalie, soit quantitative, soit qualitative du facteur Von Willebrand (vWF). Le risque hémorragique est variable selon la sévérité de l'atteinte, mais les femmes présentent une symptomatologie clinique plus marquée en raison des risques supplémentaires d'hémorragies lors des menstruations, surtout lors des accouchements et en post-partum. La fréquence du déficit en vWF a pu être estimée de 1 à 2 % de la population générale, mais la prévalence des formes symptomatiques est évaluée à 0,01 %. Le traitement adopté consiste à corriger les anomalies de l'hémostase primaire et de la coagulation. Il existe actuellement deux possibilités thérapeutiques majeures : la desmopressine ou dDAVP (1-déamino-8-D-arginine vasopressine) d'une part et les concentrés plasmatiques de facteur Willebrand, plus ou moins riches en facteur VIII, d'autre part [1].

L'objectif de notre étude prospective est de souligner la répartition des taux du vWF dans une population de femmes enceintes marocaines tout en insistant sur l'influence du groupe sanguin ABO sur les taux du vWF et en rapportant les cas de la maladie de Willebrand diagnostiquée chez cette population.

B. Matériels et méthodes

I. MATERIELS

Il s'agit d'une étude prospective réalisée au CH Ibn Sina Rabat en collaboration entre le laboratoire central d'hématologie, le centre de traitement de l'hémophilie et les urgences de la maternité Souissi. Cette étude a intéressé 390 femmes enceintes provenant de la région Rabat-Salé-Kenitra dont la taille de l'échantillon a été calculée sur la base d'une prévalence de 1% correspondant à la prévalence mondiale de la MW avec une marge d'erreur de 5% et un niveau de confiance de 95%.

La fiche d'exploitation dument renseignée par le clinicien (annexes 1 et 2) et complétée par le laboratoire contient les informations suivantes :

- Les caractéristiques épidémiologiques : nom, prénom, âge,
- L'histoire hémorragique :
 - Personnels : Epistaxis, saignement de blessures minimes, ecchymoses, saignement buccal, digestif, ménorragie, hémorragie du post-partum, hématomes musculaire et hémarthrose....
 - Familiaux : consanguinité, parents premier degrés ou deuxième degrés.
- Les résultats des tests hématologiques :
 - Le temps de céphaline avec activateur (TCA).
 - Le taux de prothrombine (TP).
 - Le dosage de fibrinogène (Fg).
 - Le dosage de l'activité vWF.
 - Le dosage de l'activité FVIII.
 - Groupage sanguin ABO-RH.

II. METHODES

1. Phase pré-analytique:

Les prélèvements sanguins sont effectués au service des urgences de la maternité Souissi par ponction veineuse dans des tubes sous vide contenant comme anticoagulant du citrate trisodique (0,109M). Le mélange sang/anticoagulant (9V/1V) est assuré immédiatement par retournements successifs et lents. L'acheminement des prélèvements par le centre de traitement

d'hémophilie se fait à température ambiante (20°C +/- 2°C) dans un délai de moins de 2 heures. Au laboratoire central d'hématologie, les prélèvements subissent immédiatement une double centrifugation à 3000g pendant 15min. Par ailleurs, la congélation des échantillons plasmatiques à -80°C se fait par décantation en tubes remplis au tiers, bouchons à vis préconisés. Pour la décongélation, les échantillons congelés doivent être incubés dans le bain marie pendant 10 minutes à 37°C et laisser reposer pendant 10 min à température ambiante 20°C +/- 2°C, puis agitation par retournements ou vortex.

2. Phase analytique:

a/ Tests d'hémostase :

Au sein du laboratoire, les tests d'hémostase sont réalisés par la méthode optique sur l'automate Sysmex CS-5100 et les réactifs Siemens.

- Taux de Prothrombine (TP) / Temps de Quick (TQ)

Le TQ se fait par le réactif *Dade Innovin/Siemens (Index de Sensibilité Internationale « ISI » = 1 / TQ témoin = 10,8 sec)*, ce réactif est un lyophilisat de facteur tissulaire humain recombinant purifié et additionné de phospholipides synthétique, de calcium, de tampon et de stabilisateurs. Une courbe de référence (droite de Thivolle) est établie à partir de la détermination du temps de Quick de 6 dilutions des plasmas témoins (*Multicalibrator /Siemens*). Les résultats sont exprimés en TP et TQ (Valeurs de références chez l'adulte : TP : 70-100%).

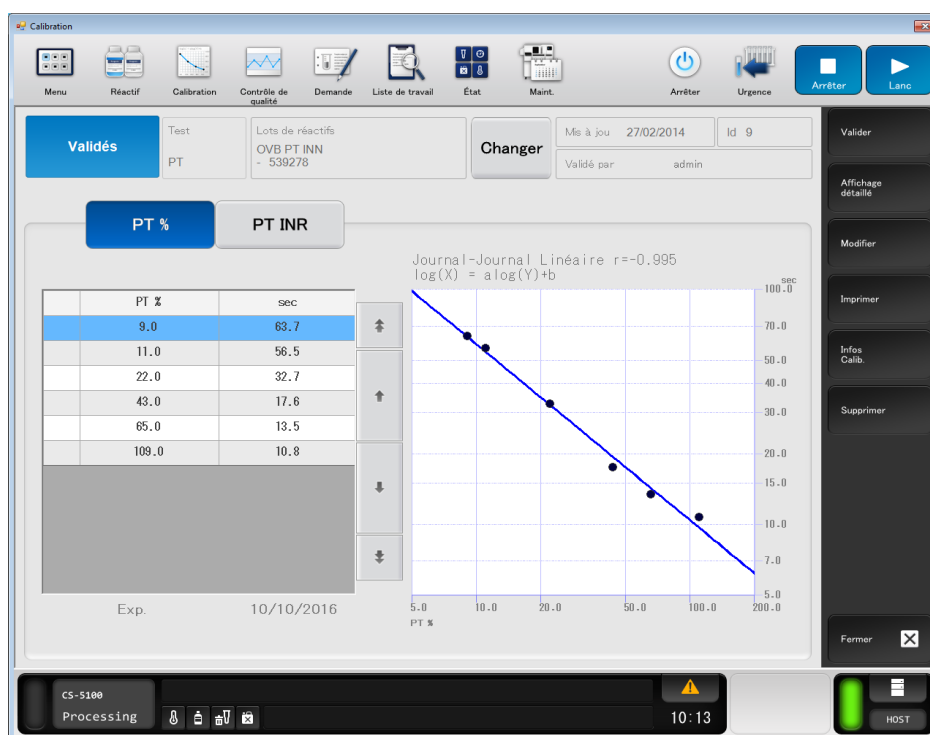


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de Thivolle : conversion du temps de Quick (TQ) en taux de prothrombine (TP).

- **Temps de céphaline et activateur (TCA) :**

La mesure du TCA se fait par le réactif *Actin FS/Siemens* (*TCA témoin = 24 sec*). Ce réactif est une solution de phospholipides de soja purifiés dans une faible concentration d'acide ellagique, tamponnés, stabilisés et additionnés de conservateur. Les résultats sont exprimés par le rapport TCA patient/TCA témoin (Valeurs de références chez l'adulte : rapport TCA patient/TCA témoin inférieur ou égal à 1,2).

- **Taux du Fibrinogène (Fg) :**

Le dosage du Fg se fait selon la méthode de Von Clauss qui utilise le réactif *Thrombin/Siemens*. Ce réactif est une préparation de thrombine bovine lyophilisée, additionnée de stabilisateurs et de tampons (Valeurs de références chez l'adulte : 2 à 4 g/L).

- Le dosage de l'activité FVIII

Le dosage de l'activité FVIII se fait par les réactifs *FVIII Deficient Plasma+Actin FS / Siemens*. Le réactif *FVIII Deficient Plasma* est un lyophilisat stabilisé et exempt en facteur VIII, préparé par immunoadsorption à partir d'un plasma normal (Valeurs de références chez l'adulte : FVIII entre 50 et 145%).

- Le dosage du facteur Von Willebrand (vWF)

Le dosage de l'activité vWF se fait par le réactif *Innovance vWF:Ac/Siemens*. C'est un dosage par technique immunoturbidimétrique automatisée, qui consiste à utiliser la liaison du vWF à son principal récepteur, la glycoprotéine Ib (GPIb) plaquettaire. Des particules de polystyrènes sont recouvertes d'un anticorps anti-GPIb. Le principe consiste en la réaction de la GPIb recombinante (qui a subi deux mutations qui lui confèrent un gain de fonction) qui se lie à l'anticorps en présence du vWF de l'échantillon. En effet, grâce aux mutations gain de fonction, la liaison du vWF à la GPIb ne nécessite pas de ristocétine. Cette liaison du vWF induit une agglutination de particules dont le degré d'augmentation de l'extinction peut faire l'objet d'une mesure par turbidimétrie.

Le principe du test *Innovance vWF:Ac/Siemens* est rapporté sur la figure 2.

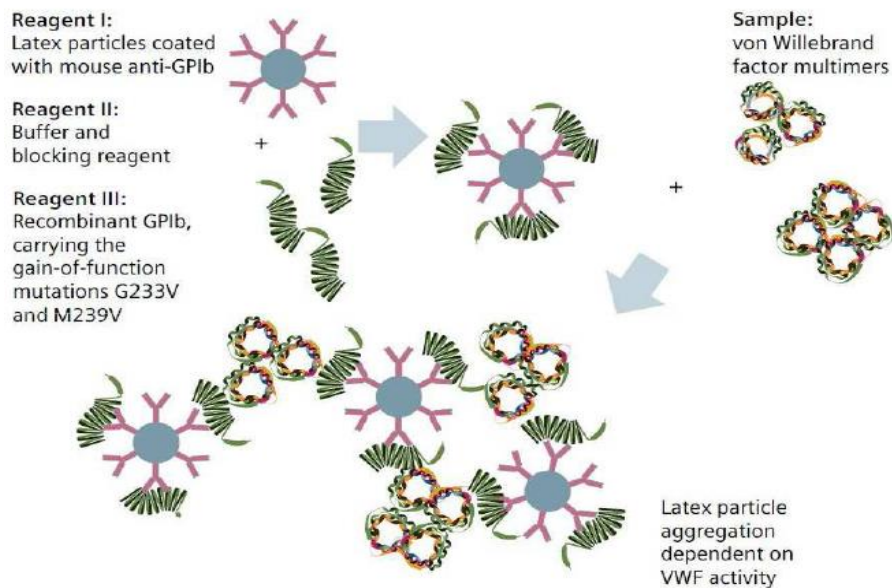


Figure 2 : Mécanisme du dosage turbidimétrique du vWF par le réactif *Innovance vWF:Ac/Siemens*.

b/Groupage sanguin ABO-RH

Le groupage ABO a été réalisé *manuellement sur cuvettes* selon une technique d'agglutination par les deux épreuves complémentaires : l'épreuve globulaire de Beth Vincent et l'épreuve sérique de Simonin. Les réactifs utilisés sont d'origine monoclonale : *Sérums tests Diagast* : Anti-A, Anti-B, Anti-AB et Anti-D. La centrifugation des microplaques se fait par une *Centrifugeuse de microplaque Jouan* (Figure 3).

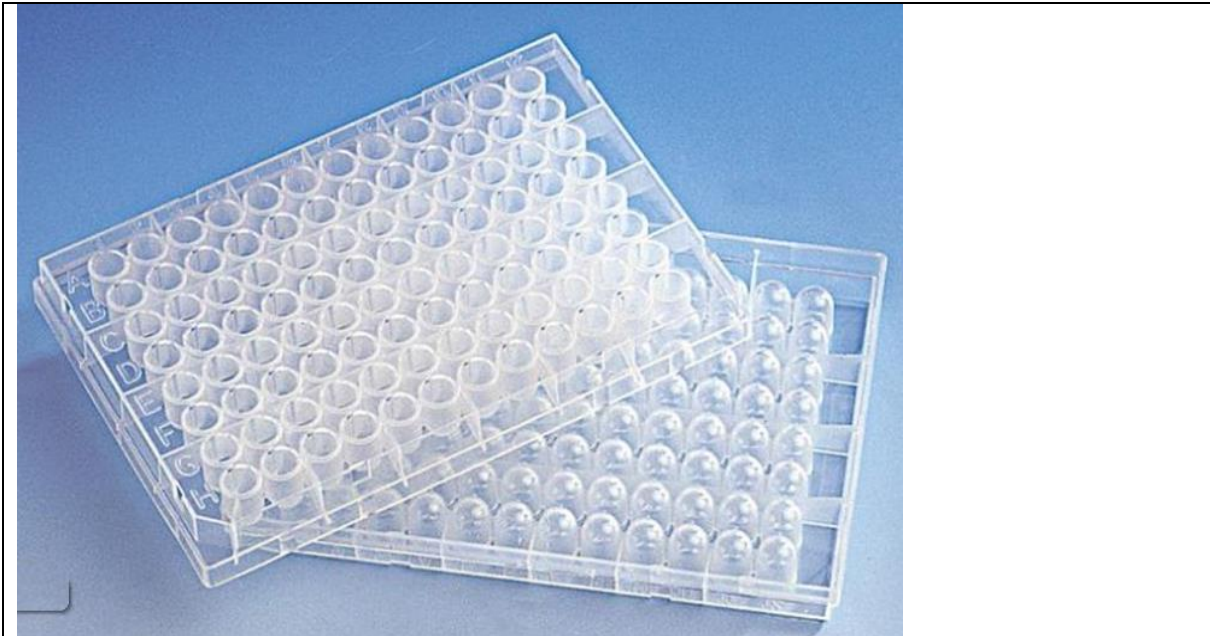


Figure 3 : Image illustrant des microplaques utilisées pour le groupage ABO-RH

3. Analyse statistique :

- Les données ont été saisies et analysées à l'aide du logiciel SPSS 20.0 (Inc, chicago,II).
- Les variables quantitatives ont été exprimées en moyenne \pm écart type vue que la distribution des différentes variables est gaussienne.
- Les variables qualitatives ont été exprimées en effectif et pourcentage et leur comparaison a été réalisée par le test chi-2.
 - Les variables quantitatives ont été comparées en utilisant une analyse de variance *ANOVA One –Way Analysis of Varaince*. Avec un test post hoc par le test de *Benferoni* quand il existe une différence statistiquement significative à *l'ANOVA*.

- Le test de *Pearson* a été utilisé pour étudier la corrélation entre les variables quantitatives avec calcul du *facteur r* de corrélation.
- Une différence est considérée comme statistiquement significative quand le $p < 0,05$.

C. Résultats

I- Répartition des patients selon les tranches d'âge

L'étude a porté sur 390 femmes, l'âge moyen est de 28,44ans \pm 6,6 avec des extrêmes de 16 et 45ans. Les âges des patientes sont répartis comme suit :

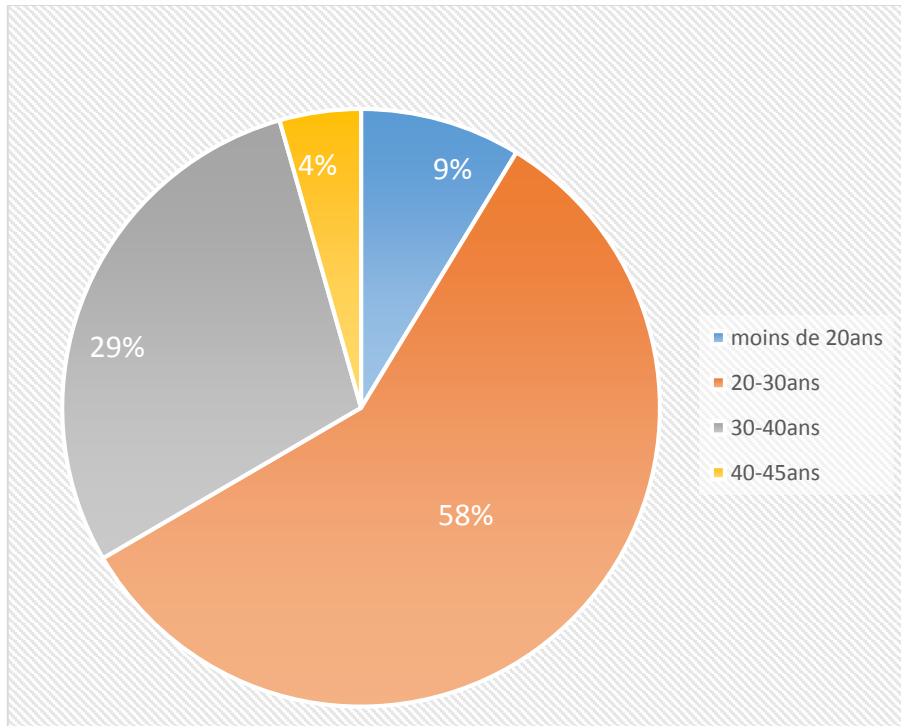


Figure 4 : Représentation de différentes tranches d'âge des patientes.

II- Répartition des patients selon les tests d'hémostase

1- Taux de prothrombine (TP)

Sur les 390 femmes enceintes, le TP est normal (70 à 100%) chez la quasi-totalité soit 99,75% sauf chez une seule patiente qui a un TP bas à 55,9%.

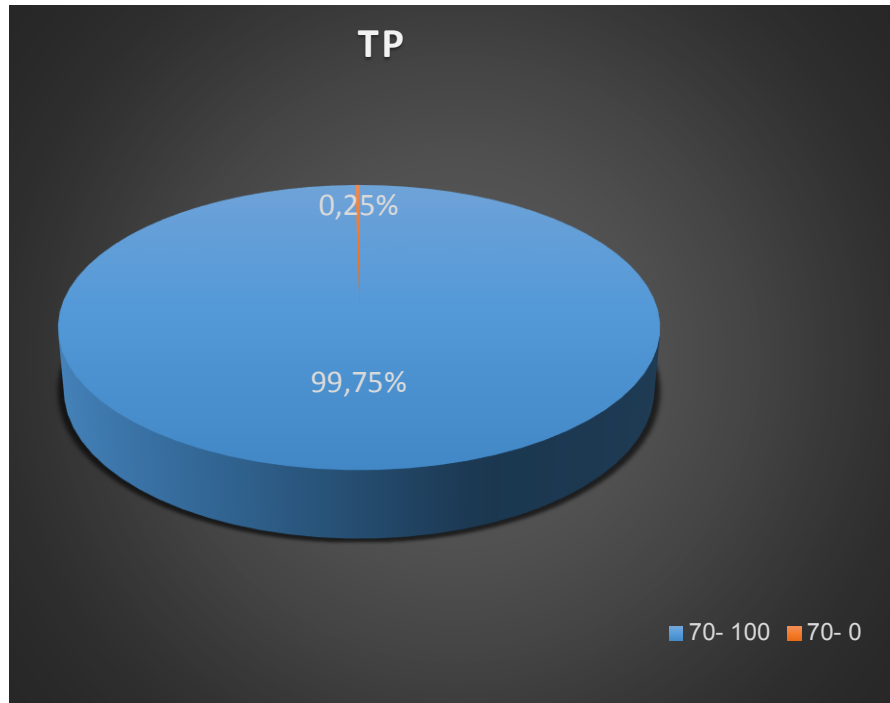


Figure 5 : Répartition des patients selon les Taux de prothrombine.

2- Rapport TCA (Ratio)

Parmi les 390 patientes, 373 avaient un ratio TCA normal (TCA patient / TCA témoin $\leq 1,2$), soit 95,64% contre 17 patientes qui se sont révélées avec un ratio TCA allongé soit 4,36%.

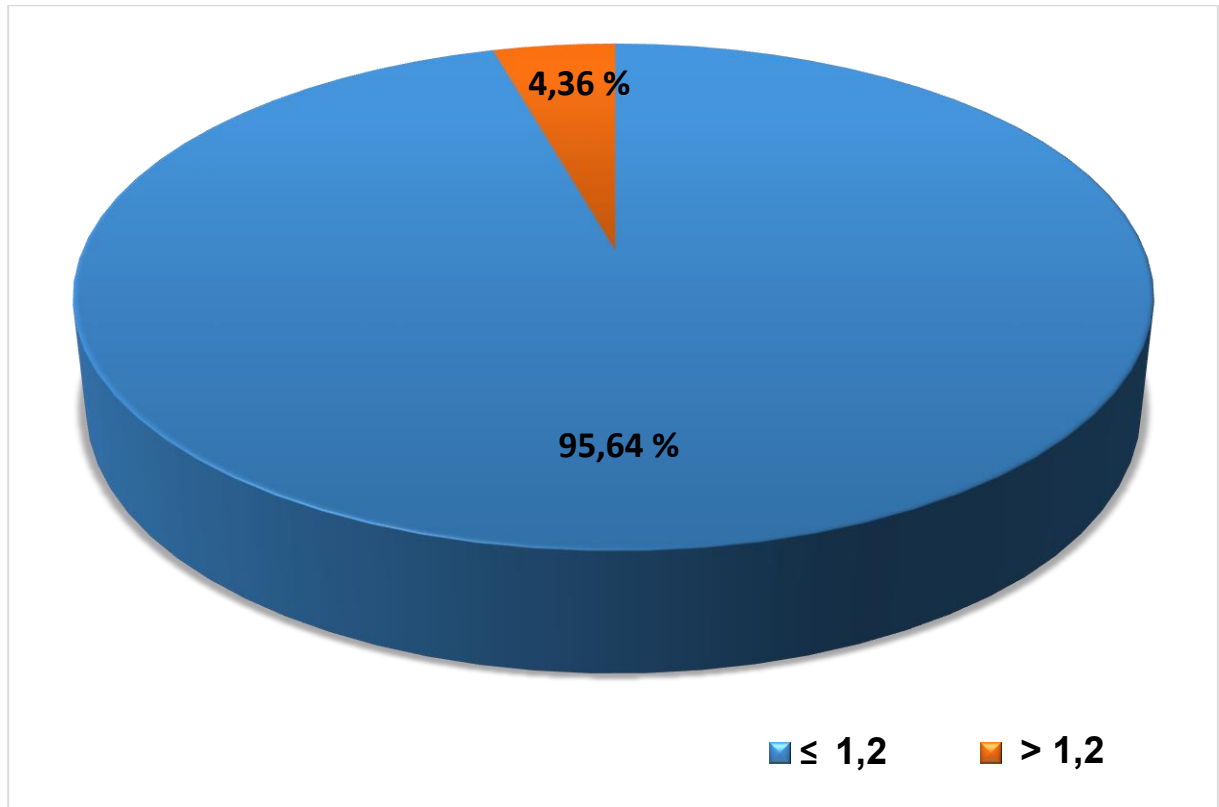


Figure 6 : Répartition des patientes selon les rapports TCA.

3- Fibrinogène (Fg)

Les taux de fibrinogène n'étaient diminués chez aucune de nos patientes. Par ailleurs, 38,97% des taux étaient dans les normes (entre 2 à 4 g/l) et 61,03% se sont révélés supérieurs aux valeurs usuelles.

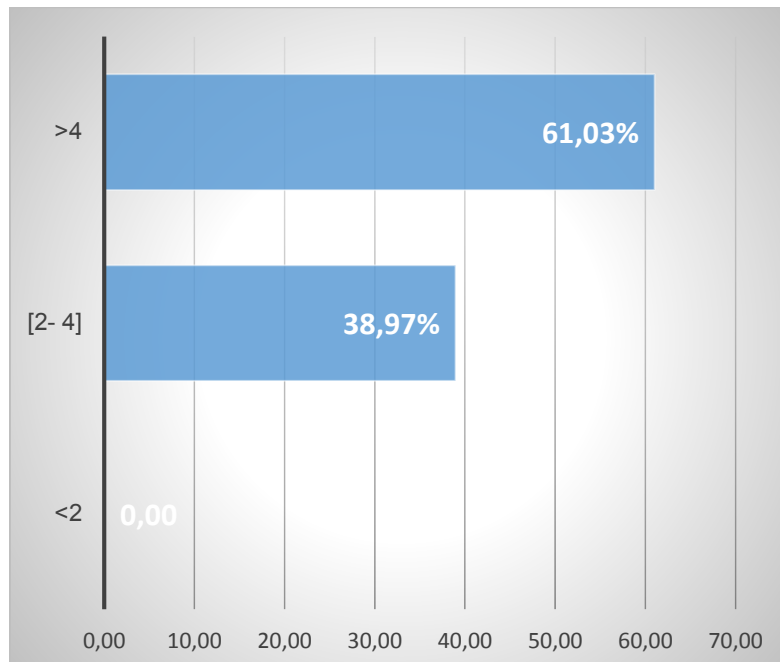


Figure 7 : Répartition des patientes selon les taux de Fibrinogène.

4- Facteur VIII (FVIII)

Selon les taux en facteur VIII, nos patientes étaient réparties en 2 patientes qui avaient un taux <50%, soit 0,51% ; 29 patientes étaient dans les normes (50 à 145%) soit 7,44% et 359 cas au-delà du seuil normal (>145%), soit 92,05%.

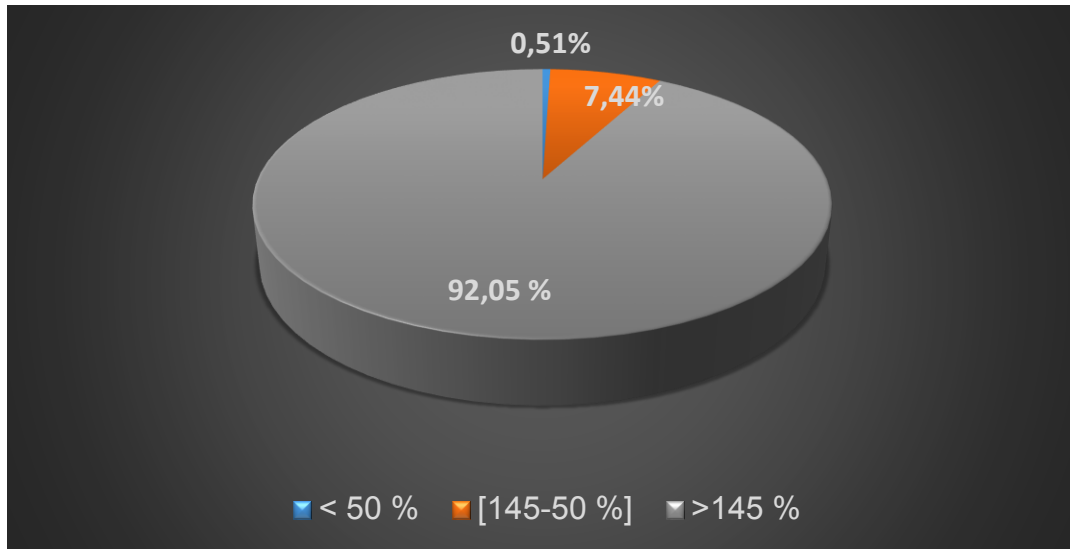


Figure 8 : Répartition des patientes selon les taux de FVIII.

5- Facteur de Von Willebrand (vWF)

Les taux en vWF étaient diminués (<50%) chez 3 patientes soit 0,77%, ceux compris dans les normes (50-160%) chez 70 patientes soit 17,95% alors que les taux élevés (>160%) chez 317 patientes soit 81,28%.

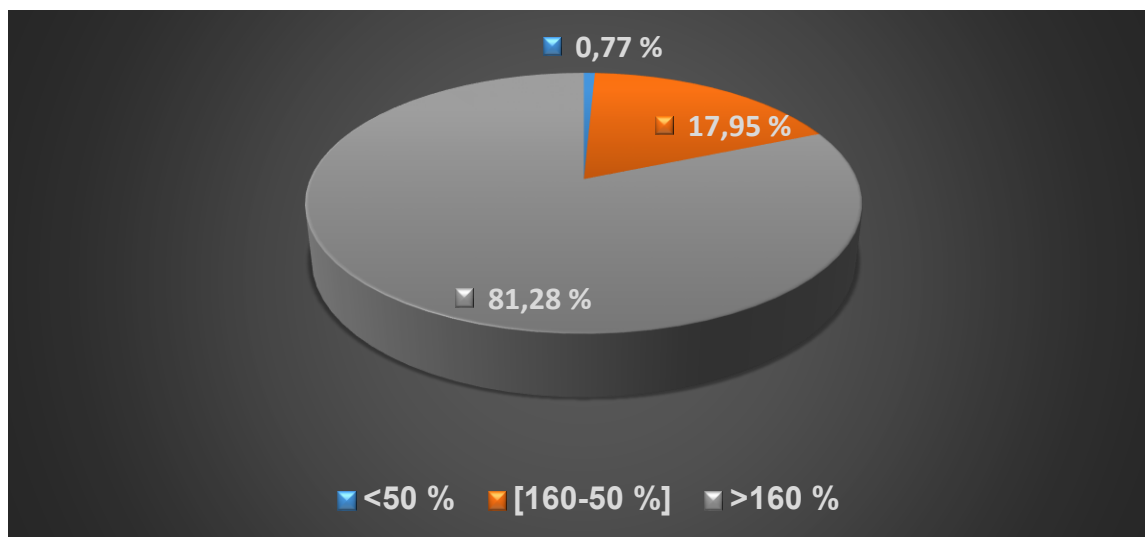


Figure 9 : Répartition des patients selon les taux de vWF.

III- Répartition des patientes selon la fréquence phénotypique ABO-RH

1- Système ABO

Les résultats du groupage sanguin ABO montrent la répartition des phénotypes comme suit :

Le groupe O se trouve chez 42,56%, le groupe A chez 33,33%, le groupe B 17,44% et le groupe AB chez 6,67% (Figure 10).

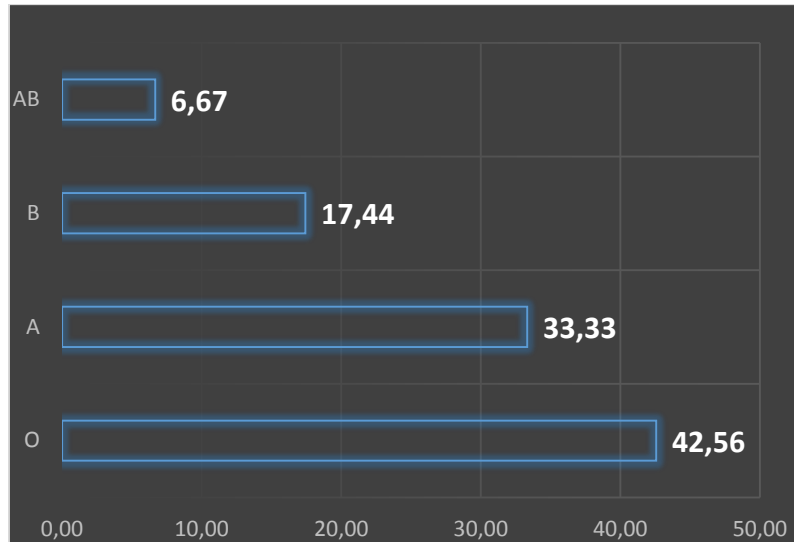


Figure 10 : La fréquence des phénotypes ABO chez la population étudiée.

2- Système RH

Les sujets Rh positif représentent 92,82% et les patients Rh négatif sont à 7,18%.

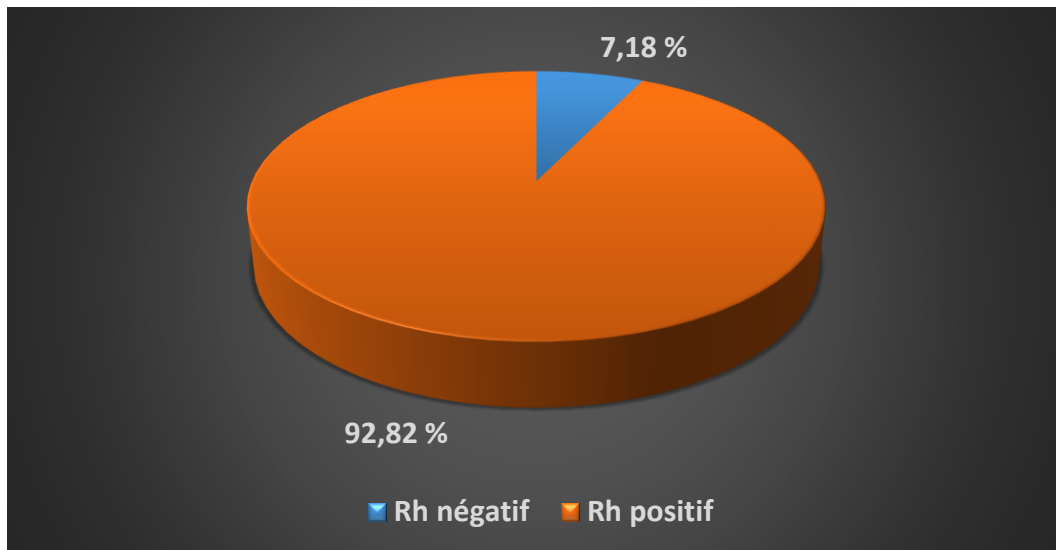


Figure 11 : La fréquence des phénotypes Rh chez la population étudiée.

IV- Répartition des taux de vWF en fonction des autres paramètres

1- vWF en fonction de l'âge

- a- Age des patientes < 20 ans : Taux de vWF dans les normes (50-160%) chez 20,6%, et supérieurs aux valeurs usuelles (>160%) chez 79,4% des patientes.
- b- Age des patientes de 20 à 30 ans : Taux bas (<50%) chez 0,9%, normal chez 18,1% et élevé chez 81%.
- c- Age des patientes de 30 à 40 ans : Taux bas chez 0,9%, normal chez 15,9% et élevé chez 83,2%.
- d- Age des patientes de 40 à 45 ans : Taux normal chez 23,5% et supérieur à la normale chez 76,5%.

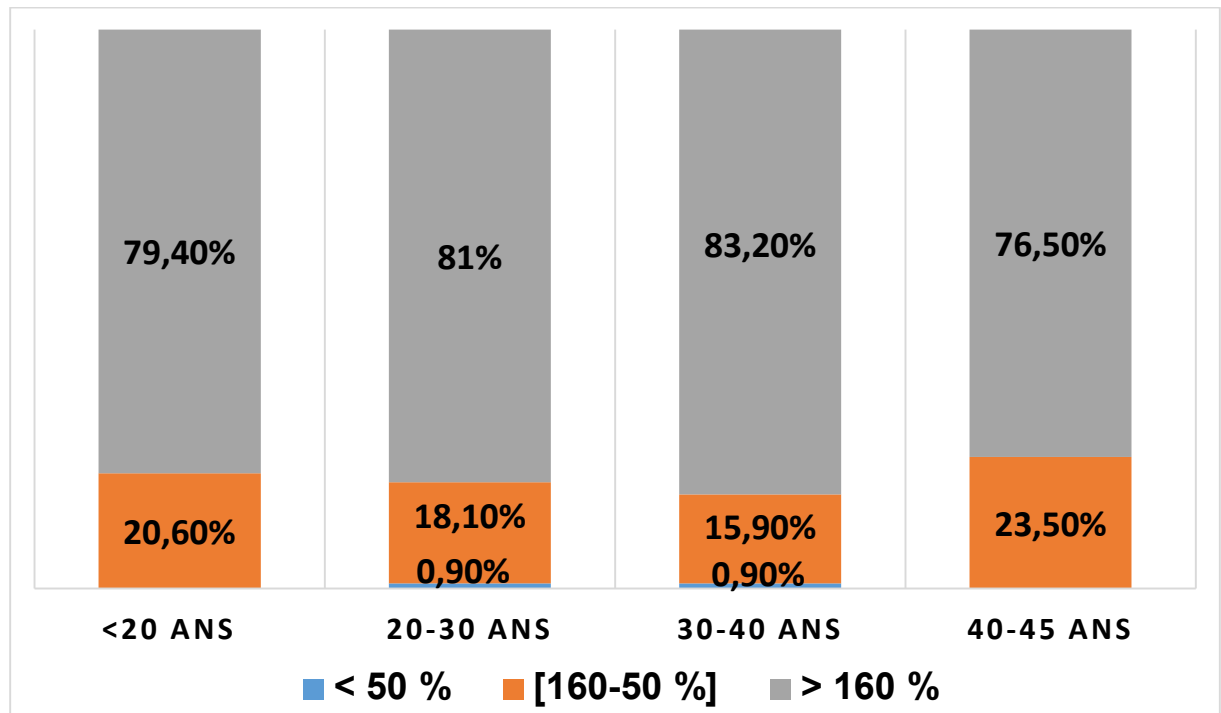


Figure 12 : Répartition des taux de VWF en fonction des tranches d'âge.

2- vWF en fonction du TP

- a) Sur les 390 femmes, une seule patiente avait un TP bas (<70%) avec un taux de vWF normal.
- b) Pour les 389 patientes qui avaient un TP normal (70-100%) : 1% étaient avec un taux de vWF diminué, 17,7% dans les normes et 81,5% se sont révélées avec des taux élevés.

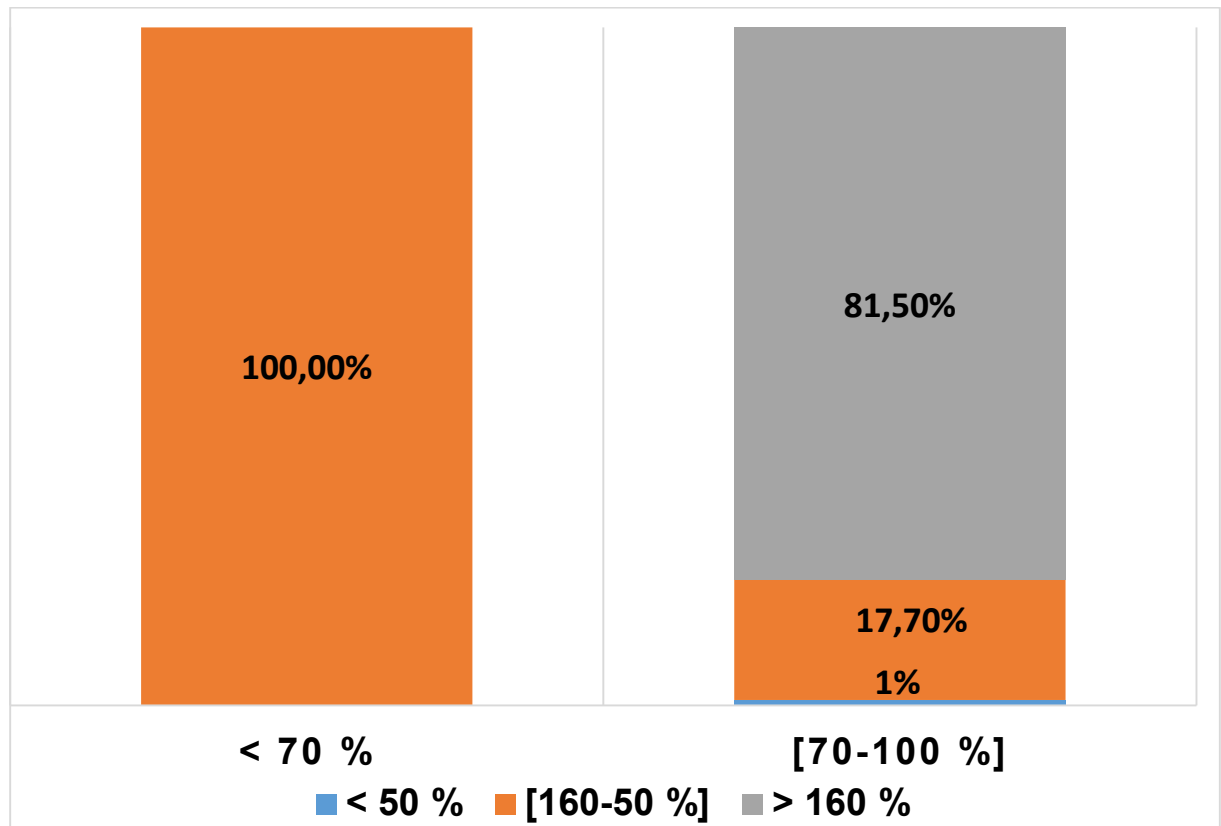


Figure 13 : Répartition des taux de vWF en fonction de TP.

3- vWF en fonction du rapport TCA

- a- Pour un ratio normal ($\leq 1,2$) : Une seule patiente soit 0,3% avec un taux bas en vWF, 17,9% dans les normes et 81,8% ont un taux supérieur à la normale.
- b- Pour un ratio TCA $> 1,2$: 12,5% avec un taux vWF diminué, 18,8% dans les normes et 68,8% se sont révélés avec un taux élevé à la valeur normale.

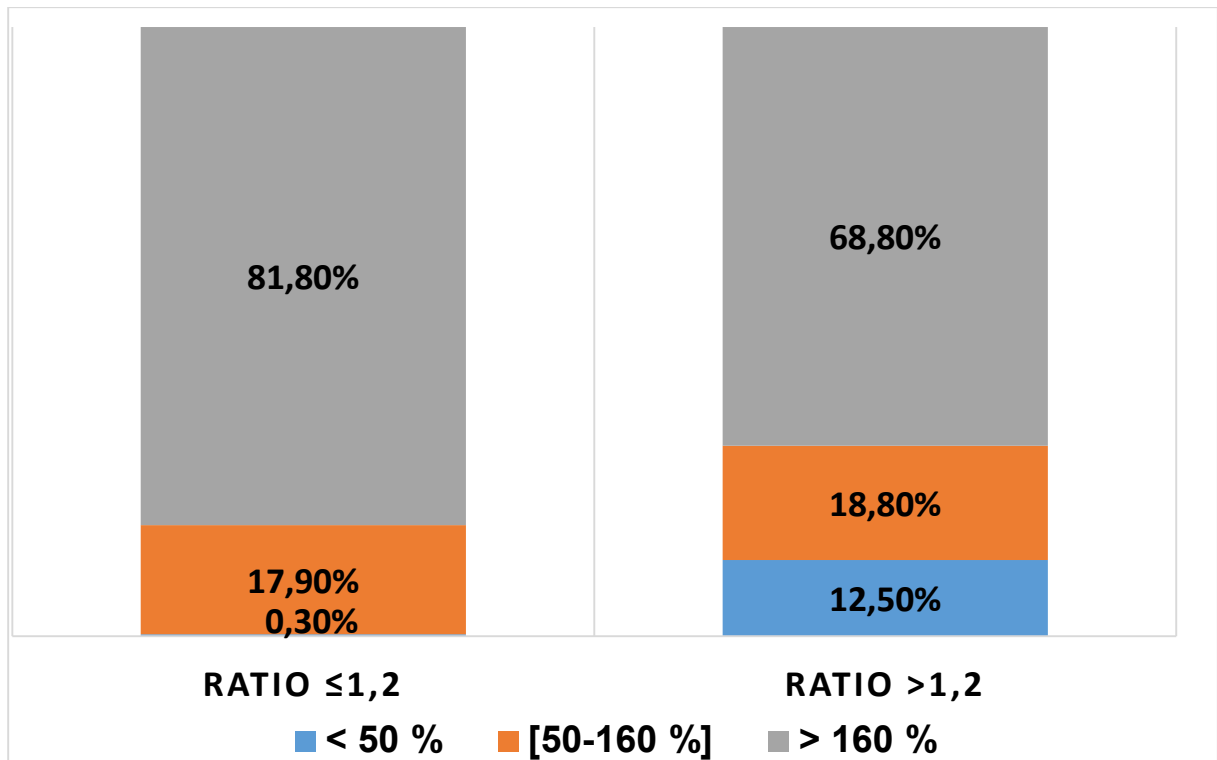


Figure 14 : Répartition des taux de vWF en fonction du rapport TCA.

4- vWF en fonction du fibrinogène

- a- Le dosage du fibrinogène n'a révélé aucune valeur inférieure à la normale (2-4g/l).
- b- Pour des valeurs normales : 1,7% avaient un taux bas en vWF, 30,0% dans les normes, et 68% avec des taux supérieurs aux valeurs usuelles.
- c- Pour les hausses valeurs en Fg (>4g/l) : 0,8% avaient un taux bas en vWF, 17,9% dans les normes et 81,3% avec des valeurs supérieures aux normes.

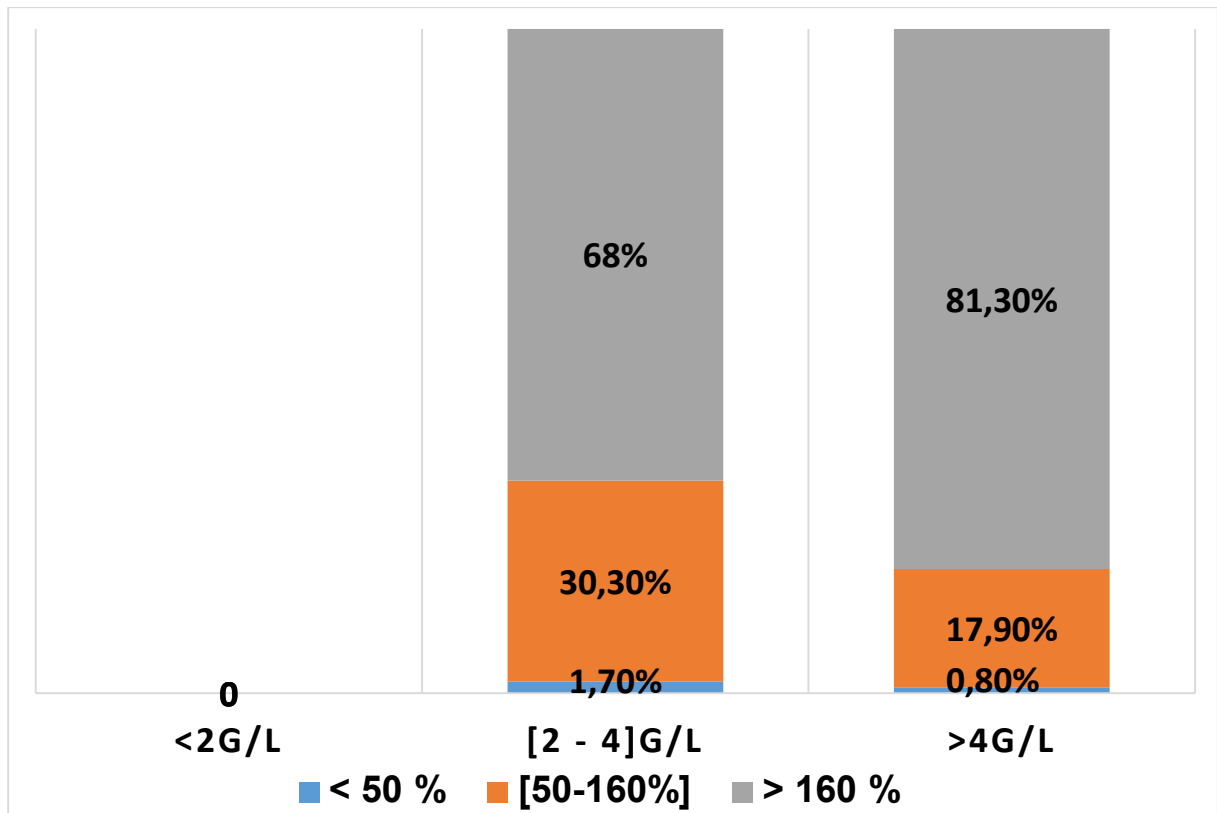


Figure 15 : Répartition des taux de VWF en fonction des taux de Fibrinogène.

5- vWF en fonction du FVIII

- a- Toutes les patientes qui ont un taux de FVIII diminué (<50%), ont un taux bas en vWF.
- b- Pour les valeurs normales en FVIII (50-145%) : une patiente, soit 3,4%, avait une valeur diminuée en vWF, 86,2% dans les normes et 10,3% supérieures aux normes.
- c- Pour des taux élevés en FVIII (>145%) : 12,5% dans les normes et 87,5% avec des taux élevés.

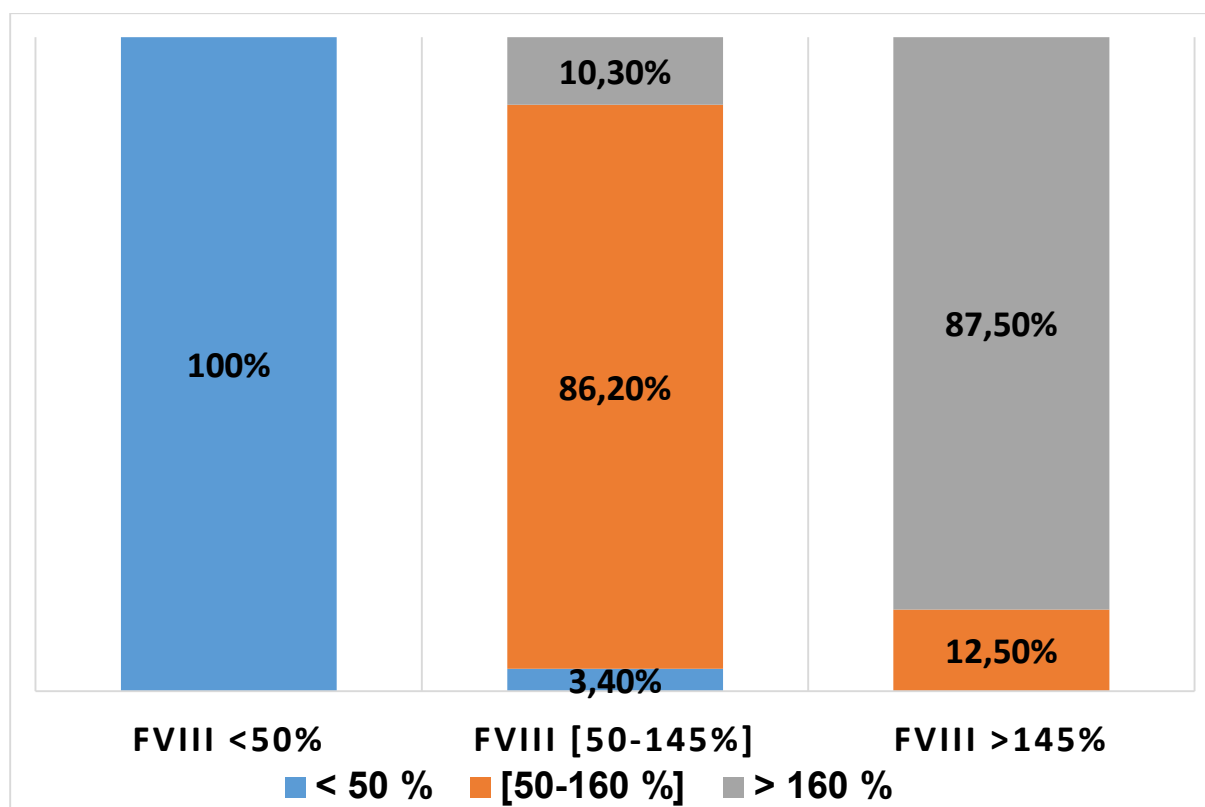


Figure 16 : Répartition des taux de VWF en fonction des taux de FVIII.

6- Répartition du vWF en fonction du groupe sanguin ABO

- a- Groupe O : Deux patientes soit 1,2% avec des taux de vWF diminués, 25,3% dans les normes et 73,5% supérieurs aux normes.
- b- Groupe A : Une patiente soit 0,78% s'est révélée avec un taux bas en vWF, 14,61% dans les normes et 84,61% supérieurs à la normale.
- c- Groupe B : 8,82% avec des valeurs normales en vWF et 91,18% ont des taux supérieurs aux normes.
- d- Groupe AB : 11,53% avec des valeurs normales en vWF et 88,47% ont des taux supérieurs aux normes.

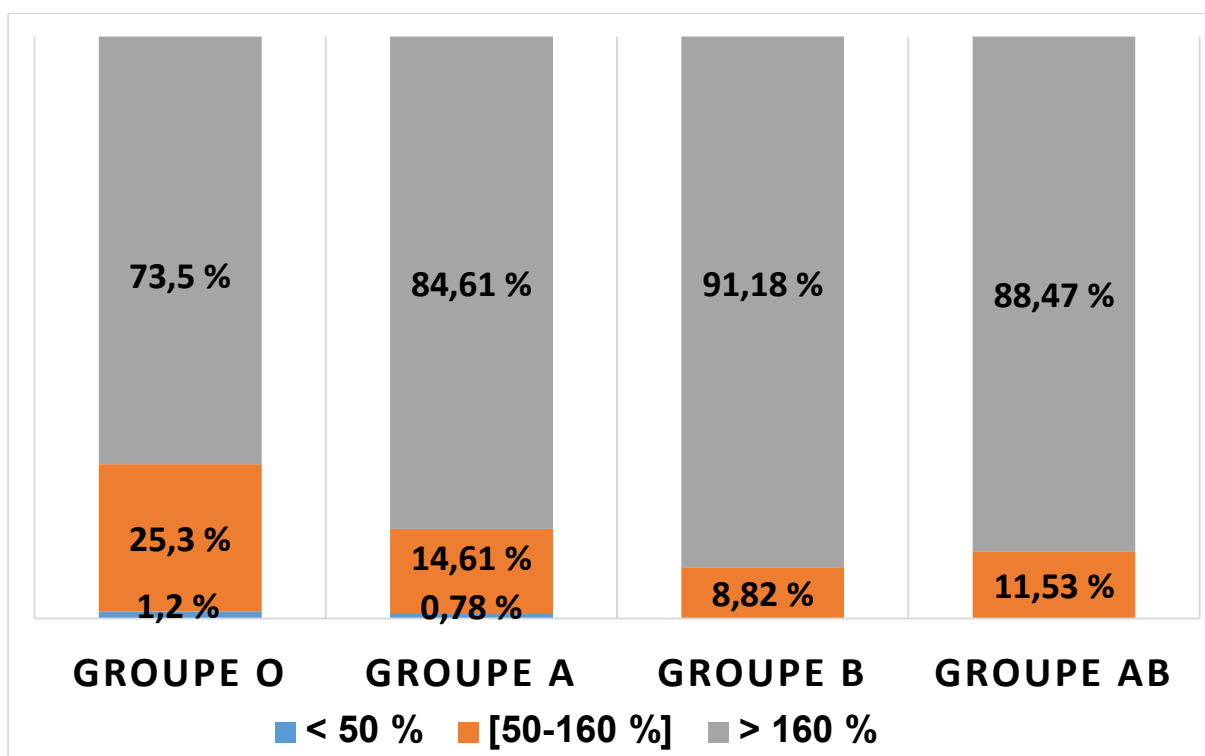


Figure 17 : Répartition des taux de VWF en fonction du groupe sanguin ABO.

7- Répartition des taux de vWF et FVIII en fonction du groupe sanguin ABO

Selon les groupes du système ABO, les taux de vWF varient dans le sens croissant : groupe O < groupe A < groupe B < groupe AB. Par ailleurs, la même répartition est notée en fonction des taux en FVIII (Tableau I).

	B	AB	A	O	P value
vWF(%)	221,15±48,63	219±38,95	203,19±54,46	188,54±57,02	<0,001
FVIII(%)	287,91±89,72	269,83±70,03	254,61±80,51	233,70±80,79	<0,001

Tableau I : Répartition des taux de vWF et FVIII en fonction du groupe sanguin ABO.

8- Corrélation entre les taux en vWF et en FVIII

On trouve que les taux de FVIII varient en parallèle avec ceux du vWF.

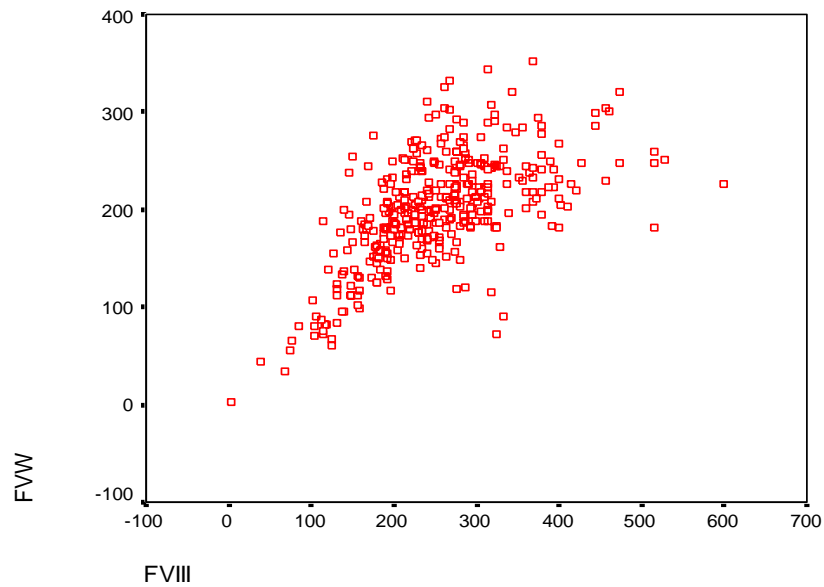


Figure 18-1 : Corrélation entre les taux de vWF et FVIII.

9- Corrélation entre le VWF et Fibrinogène

On trouve que les taux en fibrinogène varient en parallèle avec ceux en vWF

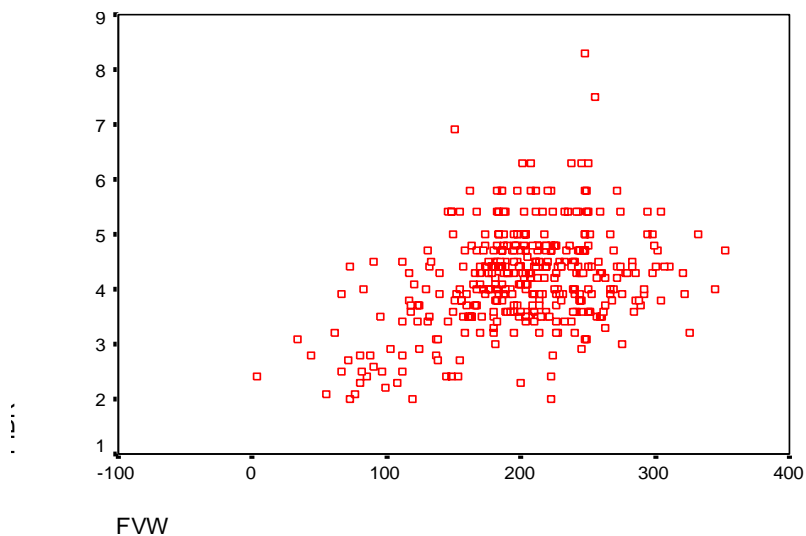


Figure 18-2 : Corrélation entre les taux de vWF et Fibrinogène

*D. Discussion et revu de la
littérature*

I. FACTEUR DE VON WILLEBRAND

I.1. Structure et synthèse du facteur de Von Willebrand : *Du gène à la protéine*

I.1.1. Structure primaire

Le facteur de Von Willebrand (vWF) est une grande glycoprotéine adhésive de structure multimérique qui circule dans le sang, elle est synthétisée par les cellules endothéliales vasculaires et les mégacaryocytes. Le gène vWF (178 kb) est localisé près de l'extrémité du bras court du chromosome 12 (12p13.3), il comporte 52 exons [1]. Il est noté la présence d'un pseudogène localisé sur le chromosome 22 qui provient d'une duplication en tandem qui a eu lieu avant la séparation des chromosomes 12 et 22 [2].

Le produit primaire du gène est un précurseur, le prépro-vWF, de 2813 acides aminés (aa). Ce précurseur comporte un peptide signal de 22 aa, un grand propeptide de 741 aa et la sous-unité mature de 2050 aa. Après clivage du peptide signal, le provWF (propeptide et sous-unité mature) est constitué d'une succession de différents domaines (A, B, C, D et CK) selon la séquence D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-C1-C2-C3-C4-C5-C6-CK. Cette structure comporte des sites fonctionnels permettant la liaison du vWF au FVIII (domaines D' et D3), à la glycoprotéine Ib α plaquettaire (GpIb α) (domaine A1), au collagène sous-endothélial (domaines A1 et A3) et à la glycoprotéine IIb/IIIa plaquettaire (GpIIb/IIIa) (domaine C4) (figure 19) [3-4].

La séquence protéique vWF contient 234 résidus cystéine, ce qui représente 8,3% de la composition d'acides aminés au total. En ce qui concerne l'incorporation de ces résidus Cys dans le pontage disulfure, il ya eu des observations apparemment contradictoires. Certains rapports indiquent qu'il n'y a pas ou peu de thiols libres présents dans la structure de vWF. En revanche, l'analyse par spectrométrie de masse des dérivés de plasma purifiés ou vWF recombinant, a révélé la présence de plusieurs cystéines non appariées (positions 889, 898, 2448, 2451 2453, 2490 2491, 2528, et 2533) (figure 20). Une étude récente menée par Shapiro et al a révélé que ces cystéines libres apparemment sont essentielles pour le pliage et la sécrétion de la protéine appropriée. Dans leur modèle, tous les cystéines participent à une liaison disulfure mais ils le font de manière séquentielle au cours de la biosynthèse. En outre, certaines de ces paires sont sensibles à la réduction du disulfure et peut donc être convertis en thiols libres une

fois secrétées. Une telle souplesse permettrait au vWF à utiliser l'état d'oxydation des cystéines pour modifier ses propriétés fonctionnelles [5].

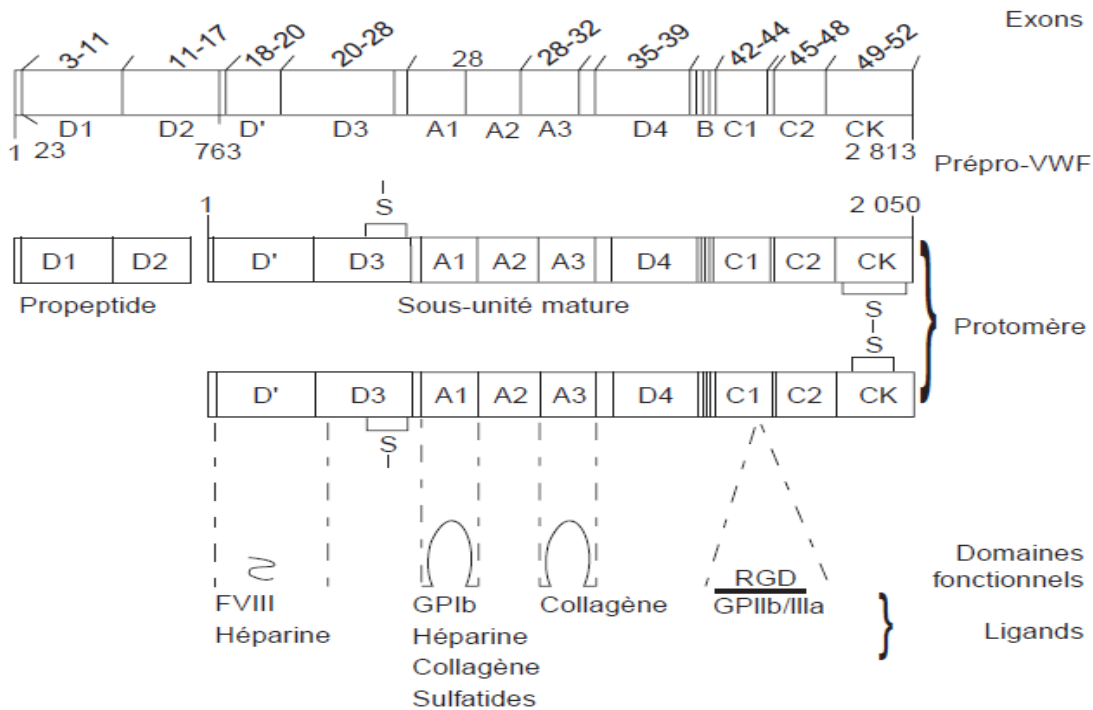


Figure 19 : Schéma des étapes de maturation du vWF et de ses sites fonctionnels [3].

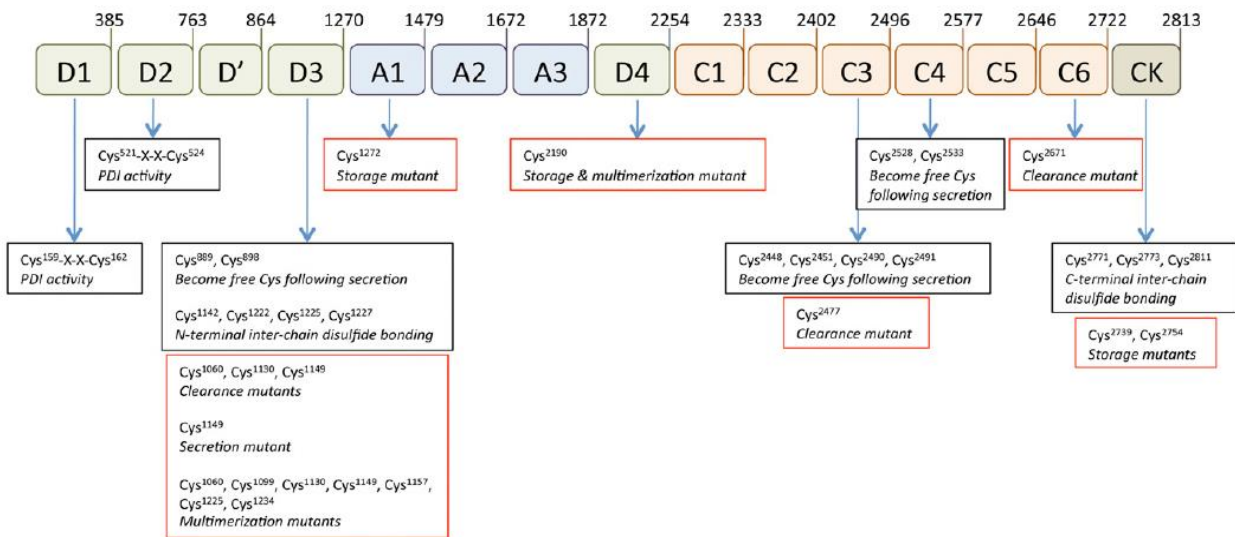


Figure 20 : Vue sur l'ensemble des résidus de cystéine pertinents de vWF [5].

I.1.2 Synthèse du facteur de Von Willebrand

I.1.2.1.Modifications post-traductionnelles

Le pro-vWF subit un ensemble complexe de modifications post-traductionnelles : dimérisation (réticulum endoplasmique), glycosylation, assemblage des dimères en multimères (appareil de Golgi) [1]. Les étapes de dimérisation et de multimérisation reposent sur des résidus cystéine, qui permettent la formation de liaisons disulfures inter-chaînes entre les extrémités C- terminales des monomères pro-vWF (domaine CK) pour la dimérisation, et N-terminales des dimères pro-vWF (domaine D3) pour le processus de multimérisation qui débute après clivage du propeptide (figure 21).

a.Multimérisation

L'appariement des cystéines au sein de vWF ne se limite pas à une seule sous-unité.

Lors de la synthèse, 2 sous-unités pro-vWF s'engagent d'abord dans une liaison covalente, impliquant la formation de 3 paires d'interchaînes de cystéine situées dans le C-terminal du domaine (CK) [6]. L'important, c'est l'emplacement structural de ces 3 paires intermoléculaires les protège de la réduction du disulfure, assurant la stabilité à long terme de la conformation dimérique de vWF. Deuxièmement, les dimères pro-vWF sont liés de façon covalente par l'intermédiaire de ponts disulfure des interchaînes impliquant des cystéines du domaine D3. Pour ce procédé, la présence du propeptide (domaines D1-D2) et le domaine D' est cruciale pour 2 raisons : Tout d'abord, le propeptide et le domaine D' servent à aligner correctement les dimères pro-vWF, facilitant ainsi la réticulation interdimérique par le domaine D3 ("modèle de zipper "). Deuxièmement, le propeptide peut catalyser la formation de disulfure entre les domaines D3 par l'intermédiaire de son activité de disulfure-isomérase protéique, qui est localisée aux motifs CxxC dans les positions 159-162 et 521-524. Il est à noter que le propeptide n'a pas besoin d'être attaché à la région D'D3 pour exercer son activité de réticulation, ainsi l'expression du propeptide en trans s'est avérée suffisante pour soutenir la multimérisation de vWF. Le propeptide est en effet capable de se lier à la région D'-D3, en particulier dans les conditions présentes dans l'environnement cellulaire (pH bas, [NaCl] faible et [CaCl₂] haute).

Le processus de multimérisation génère un pool hétérogène de multimères de différentes tailles qui contient entre 2 et plus de 60 sous-unités [7].

b. Glycosylation

Lors de la synthèse, vWF est soumise à diverses modifications post-traductionnelles, y compris la séparation de la furine médiateur du propeptide et glycosylation. Crucial pour le cycle de vie du VWF, la glycosylation commence dès la première phase de sa synthèse. En effet, dans le réticulum endoplasmique, l'enzyme oligosaccharyltransférase médié la fixation de noyau saccharide aux résidus d'asparagine au sein de la chaîne polypeptidique en développement. Différentes études ont montré que la sous-unité pro-vWF porte 17 structures glucidiques N-glycosidiques: 4 situés sur le propeptide et 13 au sein de la sous-unité mature [8]. Plus loin le long de la voie de synthèse, les N-glycanes liés sont soumis à maturation, tandis que 10 O-glycanes liés sont également ajoutés. L'analyse détaillée des vWF par divers groupes dévoile une immense variation entre ces structures d'hydrates de carbone, en particulier celle des N-glycanes liés (> 300 structures identifiées). Un certain nombre de caractéristiques intéressantes méritent d'être soulignés :

Sialylation :

La majorité (> 90%) des structures glycaniques sont plafonnés par des structures d'acide sialique. En outre, une partie de la O-Glycanes liés sont caractérisés par des structures d'acide bisialique et trisialique, ce qui indique que ces structures sont coiffées par deux plutôt qu'un seul résidu d'acide sialique [9].

Sulfatation :

Cinq sites pour les glycanes N-liés (p.Asn1515, p.Asn2223, p.Asn2290, p.Asn2400 et p.Asn2790) sont précédés par les motifs Pro-Xxx-Arg / Lys / His, favorisant sulfatation terminal. Le marquage métabolique et l'analyse par spectrométrie de masse ont confirmé la présence des résidus glycanes sulfatés dans vWF.

Les déterminants du groupe sanguin :

Les deux N et O-glycanes liés peuvent transporter les déterminants glucidiques du groupe sanguin ABO (H). Ces déterminants sont présents sur les glycanes de la sous-unité mature, mais pas sur ceux du propeptide. On estime que presque 13% des N-glycanes liés et 1% de O-glycanes liés, hébergent ces déterminants du groupe sanguin.

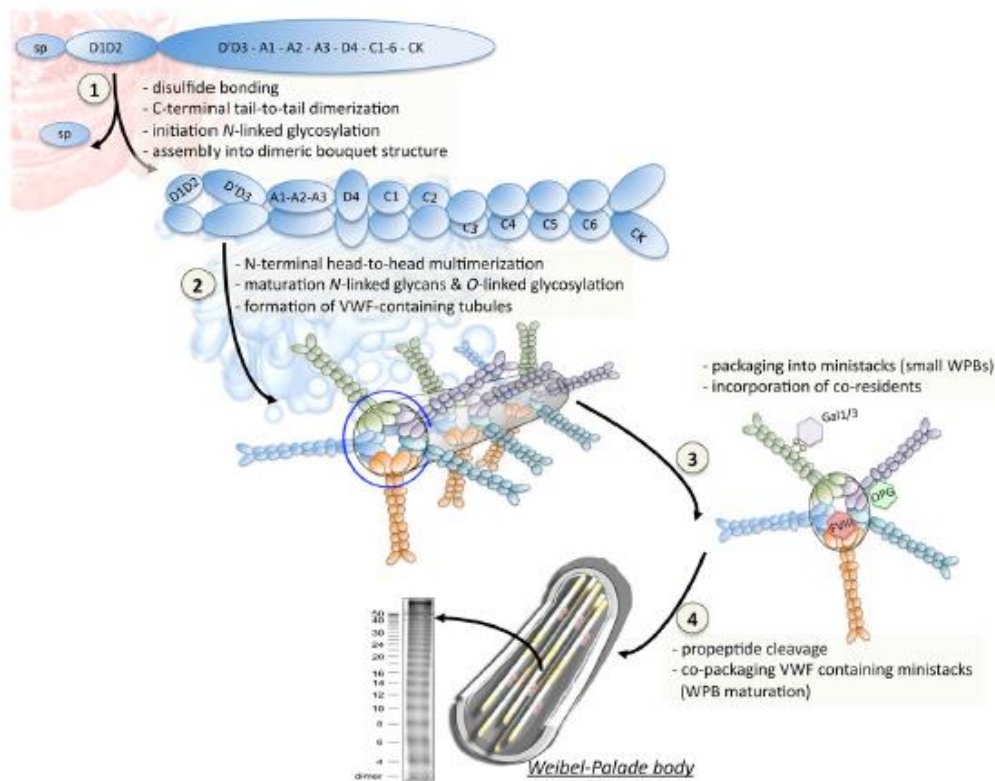


Figure 21 : Biosynthèse et emballage de vWF dans les corps de Weibel-Palade [1].

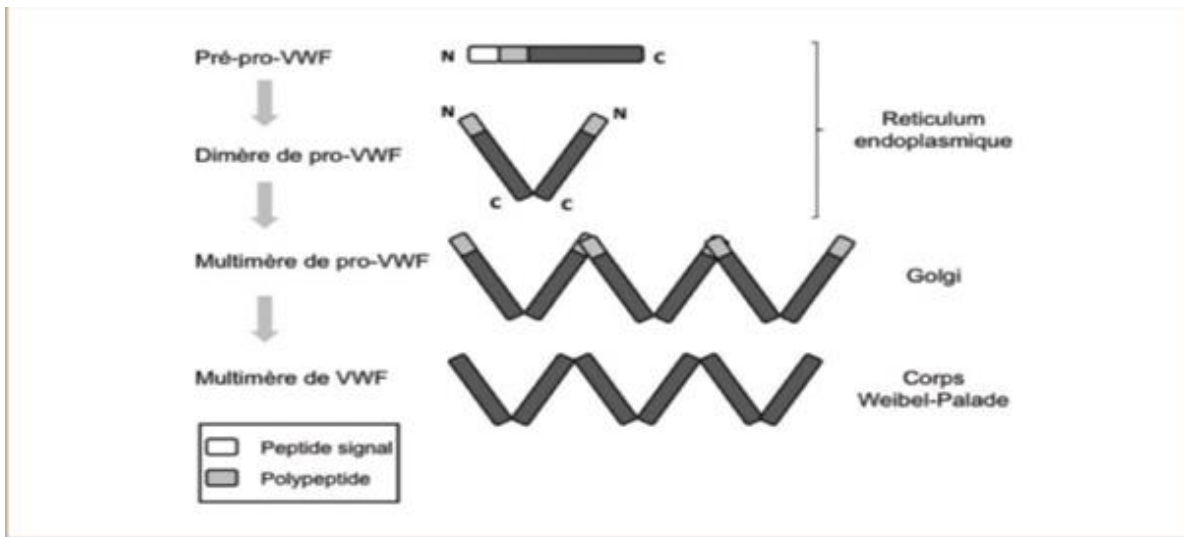


Figure 22 : Modifications post-traductionnelles dans la cellule endothéliale : du pré-pro-vWF aux multimères de vWF [1].

Après cette étape, le vWF revêt une forme hautement multimérisée (multimères de très haut poids moléculaire, vWF-THPM) correspondant à la répétition du tétramère de base et se trouve stocké avec le propeptide au sein des corps de Weibel-Palade (granules α pour les plaquettes) (figure 21 et 22). Ces structures de vWF-THPM sont hautement actives et provoquent la formation d'agrégats plaquettaires quand ils persistent dans la circulation dans le cas où elles ne sont pas clivées. Le clivage est assuré par une protéase du vWF qui a été identifiée en 2001 comme étant l'ADAMTS-13, membre de la famille des metalloproteases-disintegrin and metalloprotease avec domaines –thrombo-spondin-1 -like), ce n'est pas une serine-protéase. Elle comporte un domaine catalytique et un domaine d'ancrage membranaire [10].

I.1.2.2 Synthèse et structure de l'ADAMTS-13 [10]

C'est une glycoprotéine de 1 427 acides aminés, de masse moléculaire estimée à 190 kDa, dont l'activité est Zn et Ca dépendante et est inhibée par l'EDTA. Elle est produite principalement par les cellules peri-sinusoidales du foie. Sa concentration plasmatique est d'environ 1 $\mu\text{g/ml}$ et sa demi-vie in vitro est de plus d'une semaine, mais de 2 à 3 jours in vivo,

après plasma-thérapie. Le vWF, qui joue un rôle central dans l'agrégation plaquettaire, est le seul substrat connu de l'ADAMTS-13. (Figure 23)

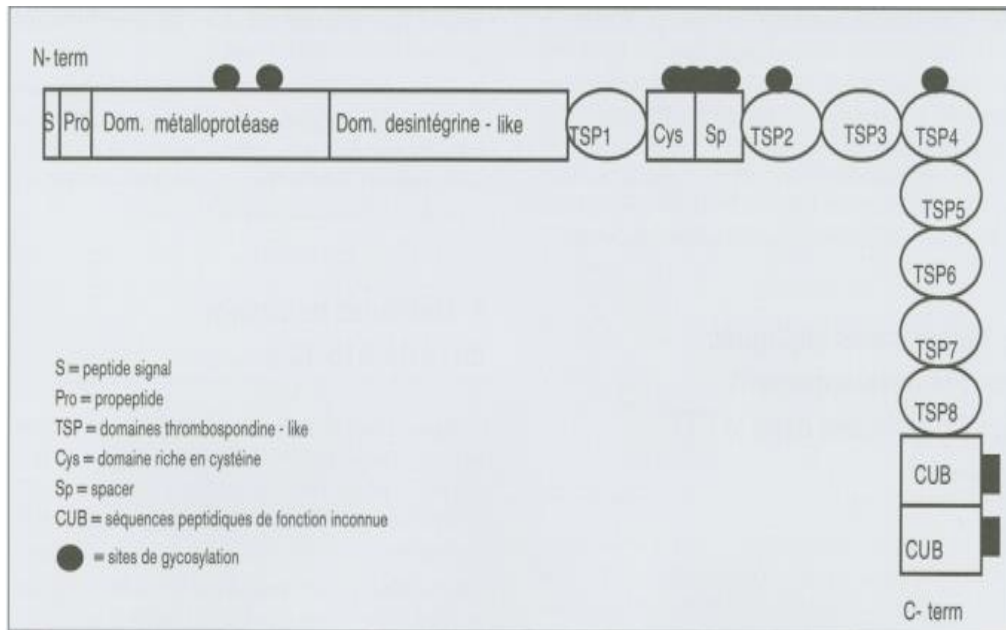


Figure 23 : Structure de l'ADAMTS-13 [10].

Fonctions de l'ADAMTS-13 : Régulation de vWF

Les cellules endothéliales et les plaquettes secrètent, de façon constitutive ou après stimuli, le vWF sous une forme (vWFTHPM) plus multimérisée (> 200000 kDa) que celle présente normalement dans le plasma (0,5 à 20000 kDa). Ces formes THPM de vWF sont les plus fonctionnelles pour l'adhésion et l'agrégation des plaquettes. La régulation des capacités adhésives du vWF est médiée par l'ADAMTS-13. Cette protéase dégrade physiologiquement les formes THPM de vWF par clivage protéolytique de la liaison Tyr842-Met843 située dans le domaine A2 de la sous-unité monomérique du vWF mature, réduisant ainsi la taille des multimères et générant des fragments de protéolyse (dimères de fragments de 176 et 140 kDa). Si l'activité de l'ADAMTS-13 est déficiente, les formes THPM-vWF persistent dans la circulation et provoquent la formation d'agrégats plaquettaires. Les cellules endothéliales activées simultanément libèrent du vWF sous formes THPM et expriment la P-selectine. La P-selectine membranaire permet aux THPM-vWF de s'attacher à la surface endothéliale, ce qui

induit, du fait du flux, un étirement du vWF sous forme filamenteuse. Le THPM-vWF offre ainsi des capacités d'adhésion et d'agrégation plaquettaire importantes et expose au niveau du domaine A2, son site de clivage par l'ADAMTS-13. En cas de déficit en ADAMTS-13, les plaquettes vont adhérer aux formes THPM-vWF hyper réactives et former des thrombi (Figure 24).

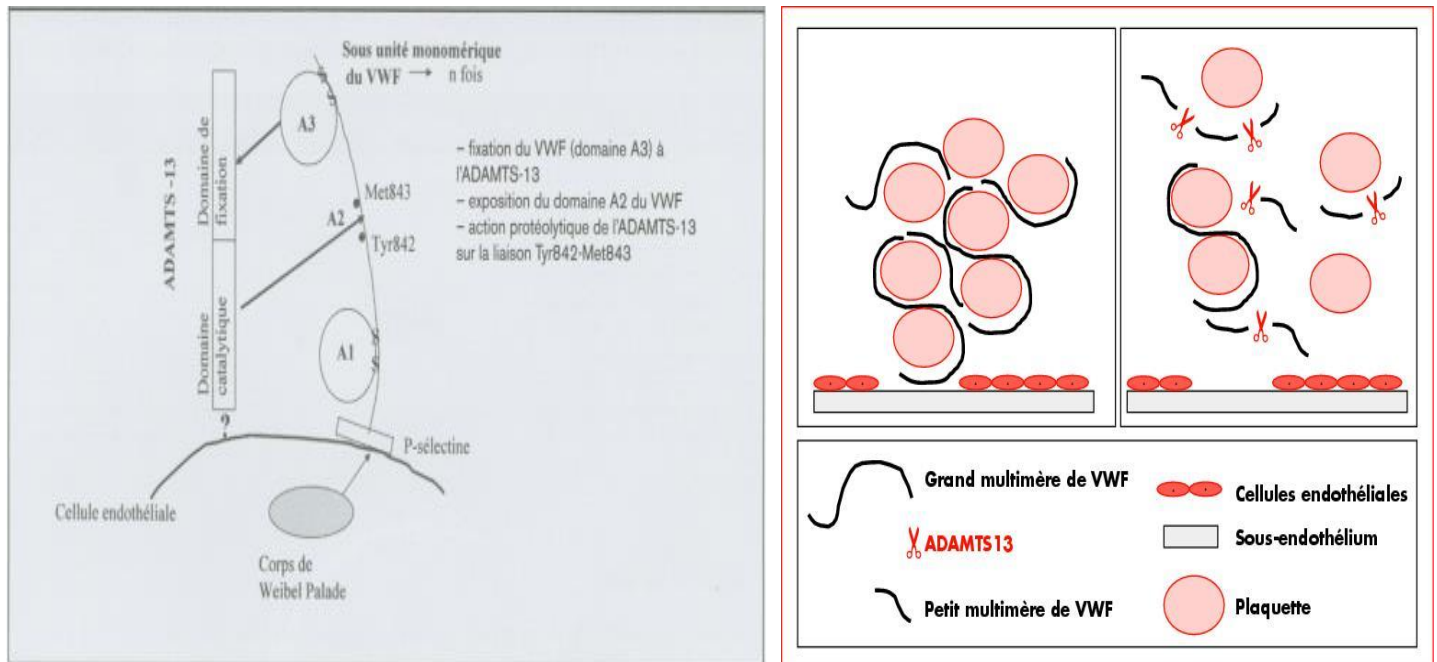


Figure 24 : Détail du clivage de vWF/ADAMTS13 [10].

I.2. Régulation des taux sanguins du facteur Von Willebrand

I.2.1 Sécrétion du facteur de vWF

I.2.1.1 Stockage de vWF par les cellules endothéliales dans les corps de Weibel-Palade et sécrétion

Le vWF se distingue des nombreuses autres protéines endothéliales du fait qu'il peut être sécrété par la cellule par l'intermédiaire de plus qu'une seule voie: la constitutive et la voie de régulation (figure25). La nature sécrétoire constitutive de l'endothélium est reflétée par l'observation que, peu de temps après la synthèse, le vWF s'accumule de manière extracellulaire en absence d'un stimulus [11]. D'autre part, si les cellules endothéliales sont exposées à des

agonistes qui donnent lieu à une augmentation des ions calcium cytosolique libre ($[Ca^{2+}]_i$), tels que la thrombine, histamine ou le calcium ionophore A23187, ou à des agents qui élèvent le niveau d'AMPc, tel que l'adrénaline ou de la forskoline, le vWF est rapidement sécrété par la cellule. Le taux de ce type de sécrétion est beaucoup plus élevé que le taux de biosynthèse de vWF [12]. La sécrétion induite par stimulus du vWF provient de vésicules de stockage, précédemment identifiées comme corps de Weibel-Palade. Ces vésicules sont des cellules endothéliales spécifiques : organites allongés, fermés et limités par une membrane, qui sont d'environ 0,1 μ m de large et de 4 μ m de long [13]. En plus de stocker vWF, il a été démontré que les corps de Weibel-Palade peuvent contenir un sous-ensemble d'autres protéines, y compris la P-sélectine et l'endothéline. Similaires au vWF, ces protéines peuvent être sécrétées à la demande par les cellules endothéliales lors de la stimulation par Ca^{2+} et les agonistes de l'AMPc. Apparemment, donc les corps de Weibel-Palade ne se limitent pas seulement au stockage de vWF. Les études au microscope électronique ont révélé que les corps de Weibel-Palade probablement proviennent du réseau trans-Golgi [14]. Cette observation soutient l'idée que vWF contenu dans des vésicules de stockage émergent à travers un bourgeonnement à partir de l'appareil de Golgi, un événement généralement associée à la sécrétion des protéines chez les eucaryotes [15-16]. Il a été proposé que le ciblage de vWF aux corps de Weibel-Palade se produise à la suite de l'agrégation sélective, au moyen de métamérisation de cette protéine dans le réseau trans-Golgi. La preuve, cependant, a été obtenue que la métamérisation du vWF ne soit pas le seul signal de ciblage. Il a été proposé que le propeptide pourrait également jouer un rôle dans ce processus [17].

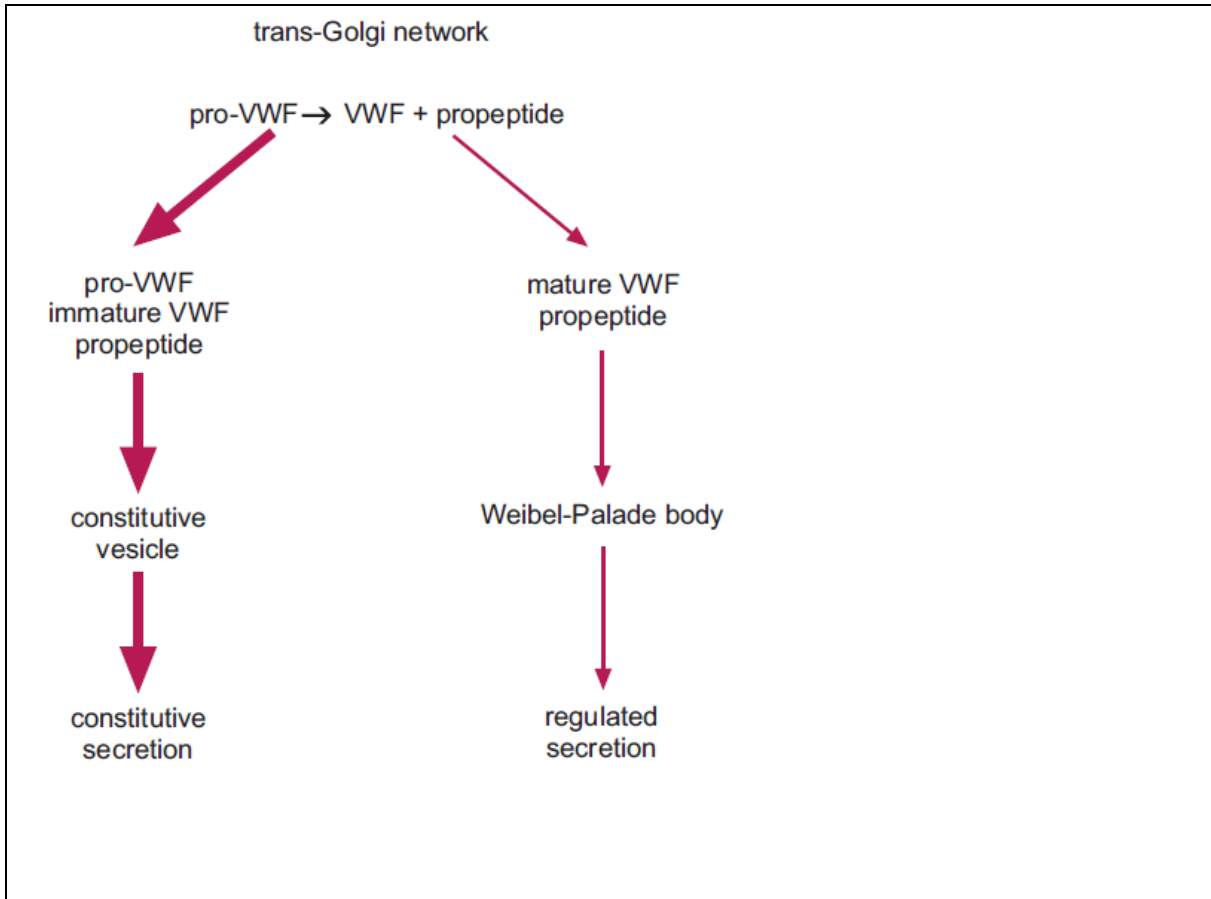


Figure 25 : Partitionnement du facteur de Von Willebrand (vWF) propeptide et pro-vWF entre la voie de sécrétion constitutive et la voie de sécrétion régulée par les cellules endothéliales [18].

La sécrétion régulée de vWF implique la translocation des corps Weibel-Palade à partir du cytoplasme vers la membrane plasmique et la fusion de ces vésicules avec la membrane plasmique. Ces événements sont régulés par des seconds messagers en réponse à des agents dépendant du $[Ca^{2+}]_i$ ou AMPc. Il est amplement prouvé que les G-protéines sont impliquées comme médiateurs $[Ca^{2+}]_i$ dans la sécrétion du vWF par les cellules endothéliales (figure 26) [19]. Leur rôle dans l'exocytose dépendante de l'AMPc reste, toutefois, à être établi. Les différences qualitatives dans la sécrétion des corps de Weibel-Palade sont observées en réponse à $[Ca^{2+}]_i$ et agonistes de l'AMPc. $[Ca^{2+}]_i$ induit la libération de deux granules centraux et périphériques, tandis que l'AMPc implique seulement les vésicules situées à la périphérie de la cellule. Il est intéressant de noter que le rôle de la 1-désamino-8-D-arginine vasopressine (DDAVP), qui est largement utilisé pour soulever le taux plasmatique de vWF et le niveau de facteur VIII chez les patients atteints de la maladie de Willebrand et l'hémophilie A, a récemment été délimitée [20]. Il a été montré que la DDAVP peut directement induire la sécrétion de vWF des cellules endothéliales microvasculaires humaines par l'activation du récepteur à la vasopressine V2. Ce processus est médié par une augmentation de l'AMPc.

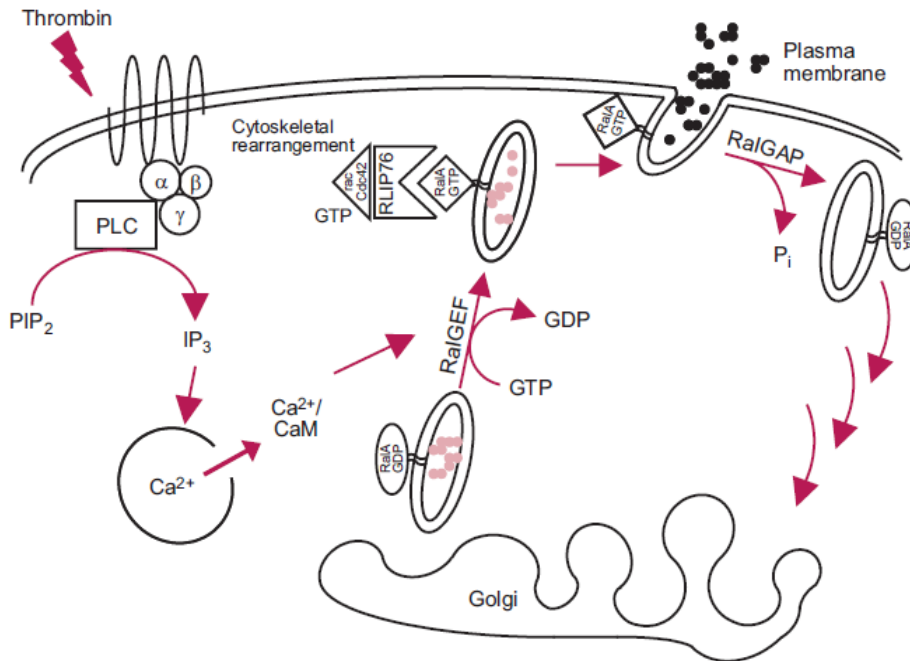


Figure 26 : Le rôle des petites GTPases dans l'exocytose des corps de Weibel Palade par les cellules endothéliales stimulée [19].

I.2.1.2 Signification physiologique vWF : maturation et la sécrétion

Comme indiqué ci-dessus, l'expression du gène vWF est associée à un certain nombre de modifications post-traductionnelles, y compris une étape de clivage endoprotéolytique discret. Les derniers résultats de l'étape de la génération de vWF mature et la fraction propeptide du vWF. Ces polypeptides sont ensuite libérés à l'extérieur de la cellule, soit directement, soit après stimulation appropriée de la cellule. Après leur libération, vWF et son propeptide ont des destins divergents. vWF joue un rôle dans le contrôle de l'adhérence et l'agrégation plaquettaire, et agit comme une protéine chaperon du FVIII; le propeptide peut agir comme un antagoniste de la fonction plaquettaire et peut jouer un rôle en tant que médiateur inflammatoire. Peu de données sont disponibles sur la signification physiologique de la diversité de traitement, la sécrétion et la capacité des cellules endothéliales pour stocker vWF. Il semble raisonnable de supposer qu'un sous-ensemble des polymères vWF biologiquement actifs devient facilement disponible dans le voisinage du vaisseau blessé lors de l'activation des cellules endothéliales et

l'exocytose ultérieure des corps de Weibel-Palade (par exemple, induite par la thrombine formée localement à la suite des dommages vasculaires). Des études *in vitro* ont montré qu'une partie importante de vWF synthétisé de novo est sécrétée par la voie constitutive que celle partiellement traité, protéine incomplètement polymérisée et fonctionnellement incompétentes [21]. Seules des traces de pro-vWF sont détectables dans le plasma. Ceci suggère que, dans les conditions physiologiques normales, la voie constitutive ne contribue pas sensiblement à la libération de vWF. D'autre part, il est possible que, après sa sortie, pro-vWF soit rapidement éliminé de la circulation ou est alternativement converti en vWF mature et propeptide en dehors de la cellule. En effet, des études expérimentales sur des animaux ont montré que, sur l'infusion de (non transformés) pro-vWF, le propeptide de vWF est rapidement clivé à partir de son précurseur. Dans tous les cas, seuls vWF mature et son propeptide sont détectables dans le plasma dans des quantités significatives (5nM et 50nM respectivement), leur précurseur, pro-vWF, ne l'est pas [22].

1.2.2 Clairance du facteur Von Willebrand

Le taux de vWF plasmatique est en moyenne de 10 µg/mL mais il existe une variation importante entre individus autour de cette valeur moyenne. Un certain nombre de paramètres, génétiques ou non, peuvent influencer de façon plus ou moins importante le taux de vWF. Depuis quelques années il est apparu avec davantage d'acuité l'importance de mieux comprendre comment ce taux est régulé puisqu'une concentration faible de vWF entraîne un risque hémorragique tandis qu'une concentration élevée pourrait constituer un facteur de risque de thrombose [23-24]. Pour ce qui est du versant biosynthèse du vWF, les mécanismes en ont été largement étudiés et les différentes étapes sont désormais bien élucidées. Par contre jusqu'à récemment, quasiment aucun élément n'était connu sur la façon dont le vWF était éliminé de la circulation ni sur les différents paramètres qui pouvaient modifier ce phénomène.

1.2.2.1 Éléments extérieurs régulant le taux plasmatique du vWF

Le manque de données sur les mécanismes de clairance du vWF, rend difficile de savoir si les facteurs qui ont été rapportés dans la littérature comme modifiant la concentration plasmatique en vWF, exercent leur effet sur la biosynthèse ou sur la clairance de cette protéine. Des études réalisées sur des jumeaux ont montré que 40 % de la variation du taux de vWF dans

la population générale pouvaient être attribués à des facteurs environnementaux et 60 % étaient liés à des facteurs génétiques [25]. Les différences de glycosylation, en particulier celles dues au système ABO des groupes sanguins, sont en grande partie responsables de cette variabilité génétique.

A- Profil de glycosylation

1)- Système ABO [26,27,28]

Ce système est actuellement l'unique modificateur du taux de vWF plasmatique qui soit bien caractérisé chez l'homme. Les antigènes du système ABO, A, B et H(O) sont composés d'une chaîne commune, l'antigène H, qui peut être modifié par l'action respective des glycosyltransférases A et/ou B pour conduire aux groupes AB, A ou B. L'absence de ces deux glycosyltransférases A et B conduit à l'absence de modification de l'antigène H, et au groupe O. Ces antigènes sont des structures de type carbohydrates qui sont portées par des protéines à la surface des globules rouges mais aussi d'autres tissus comme l'endothélium vasculaire et certains tissus épithéliaux. Ces antigènes sont également portés par le vWF. Les individus de groupe O ont en moyenne un taux de vWF de 30 % inférieur aux individus non-O. Ce qui complique le diagnostic de la MW, plus particulièrement chez les individus de groupe O. En effet, dans ce groupe, les valeurs normales basses peuvent chevaucher significativement des valeurs généralement associées à un type 1 de la maladie de Willebrand. Pour expliquer cette observation, plusieurs hypothèses ont été proposées entre une maturation anormale ou une instabilité ou encore une sécrétion anormale du vWF. Même si aujourd'hui encore le mécanisme n'a pas été élucidé avec précision, il apparaît de plus en plus probable que la présence des différents antigènes du système ABO sur le vWF entraîne des modifications de sa cinétique de clairance dans le plasma. Selon ce modèle, le vWF portant l'antigène H non modifié serait éliminé plus rapidement que le vWF portant les antigènes A ou B, ce qui pourrait expliquer les taux réduits de vWF chez les individus de groupe O. Un argument en faveur de cette hypothèse de clairance provient de l'observation selon laquelle la demi-vie du FVIII recombinant est plus courte chez les patients hémophiles de groupe O que chez les patients hémophiles de groupe A.

2)- Systèmes Lewis et Sécréteur [29-30]

Ces deux systèmes de groupes sanguins sont très proches du système ABO. Ils sont caractérisés par la présence ou l'absence de carbohydrates spécifiques qui se fixent secondairement sur les chaînes glucidiques qui portent les antigènes A, B ou H et leur apportent de nouvelles spécificités. L'influence potentielle de ces deux systèmes de groupes sanguins sur la concentration plasmatique du VvWF a donné lieu à des résultats controversés, fortement dépendants du système ABO. Une étude récente a établi que dans la population générale, les individus sécréteurs homozygotes pour l'allèle Sécréteur Se (génotype SeSe) avaient un taux de vWF significativement plus élevé que les individus hétérozygotes, différence confirmée dans une sous-population comprenant uniquement des individus de groupe O. Par contre, aucun effet du système Lewis n'a pu être observé dans cette étude. Les auteurs émettent l'hypothèse que l'effet du système Sécréteur s'exerce par une clairance altérée du vWF due à une compétition entre les antigènes H présents sur le vWF et ceux sécrétés dans le plasma.

3)- Sialyltransférase ST3Gal-IV

Cette enzyme apparaît désormais comme un candidat particulièrement intéressant en tant que gène modificateur du taux de vWF. Son rôle consiste à catalyser le transfert d'acide sialique sur les chaînes glycanes. La présence de ces acides sialiques peut s'avérer d'une grande importance pour la stabilité des glycoprotéines. En effet, ils permettent de masquer certains épitopes qui s'ils sont exposés, sont reconnus par le récepteur des asialoglycoprotéines présent au niveau du foie et de la rate. Il a été montré que l'élimination des acides sialiques peut entraîner une forte réduction de la demi-vie de certaines glycoprotéines. Un modèle de souris déficientes en sialyltransférase ST3Gal-IV a été créé par recombinaison homologue. Ces souris présentent un temps de saignement allongé, directement lié à une réduction du taux de vWF plasmatique. L'absence de sialylation entraîne une surexposition des résidus galactose ou N-acétylgalactosamine au niveau du vWF. La protéine ainsi modifiée est reconnue par le récepteur des asialoglycoprotéines ce qui conduit à une clairance accélérée et une concentration plasmatique fortement réduite. Ces observations réalisées dans un modèle murin semblent pouvoir être extrapolées à l'homme puisqu'une telle surexposition des chaînes galactose ou N-acétylgalactosamine a pu être détectée chez certains patients ayant un taux très réduit en vWF [31].

4)- N-acétylgalactosaminyltransférase-Galgt2 [32,33]

Les nombreuses souches de souris consanguines disponibles représentent un outil idéal pour rechercher d'éventuels gènes modificateurs. En ce qui concerne le vWF, des variations d'un facteur 20 ont pu être observées selon la souche étudiée ce qui suggère la ségrégation de gènes modificateurs du vWF dans ces souches. Des tests effectués de façon systématique dans diverses souches murines a ainsi permis d'identifier la souche RIIS/J qui présente un temps de saignement très allongé et une concentration réduite en vWF plasmatique. Une étude par clonage positionnel a permis d'établir que ce défaut était causé par un gène, distinct de celui du vWF, le gène Galgt2, codant pour une glycosyltransférase. L'activité de cette enzyme détermine l'expression d'un oligosaccharide spécifique d'une sous-population de lymphocytes T murins [26]. L'équivalent humain de cette enzyme est responsable de l'expression de l'antigène de groupe sanguin Sd^a. Chez les souris RIIS/J, il existe une mutation qui induit un transfert de la spécificité cellulaire d'expression de Galgt2. Du fait de cette mutation, ce gène normalement exprimé au niveau des cellules épithéliales du système digestif, est alors exprimé au niveau des cellules endothéliales qui synthétisent également le vWF. Lors de sa maturation, le vWF va alors subir des modifications post-traductionnelles aberrantes, en particulier le transfert de N-acétylgalactosamine sur ses chaînes glycosylées. Après sécrétion dans le plasma, cette forme va être reconnue par le récepteur des asialoglycoprotéines et subir une clairance très rapide.

B-ADAMTS-13

Le vWF circule dans le plasma sous forme d'une série de multimères de différentes tailles mais pouvant atteindre jusqu'à 15 à 20 x 10⁶ daltons. Les multimères de plus grande taille sont également les plus actifs biologiquement. La régulation de la taille de ces multimères est assurée par une protéase ADAMTS-13 et dont le défaut d'activité conduit à une pathologie systémique grave : le purpura thrombotique thrombocytopénique [34]. Cette enzyme clive le vWF entre les résidus Tyr 1605 et Met 1606 dans le domaine A2. Il est possible que cette protéase contribue au catabolisme du vWF. En effet, on peut imaginer que les multimères de vWF de haut poids moléculaire soient d'abord clivés en multimères de bas poids moléculaire avant d'être éliminés de la circulation. Il est d'ailleurs intéressant de constater que le gène

codant pour ADAMTS-13 est localisé sur le chromosome 9q34 à proximité, en termes génétiques, du locus ABO (à 140000 paires de base). Cette région du génome humain ayant été identifiée comme le déterminant génétique majeur du taux de vWF, d'où l'hypothèse d'une contribution possible du locus *adams-13*. Les données expérimentales disponibles actuellement ne permettent pas de conclure quant à la validité de cette hypothèse. Une étude visant à étudier la sensibilité à ADAMTS-13, de vWF purifié à partir de donneurs de différents groupes sanguins, complique encore un peu plus les choses puisqu'il semble que la sensibilité à ADAMTS-13 décroît dans l'ordre $O \geq B > A \geq AB$ tandis que la concentration de vWF augmente selon l'ordre $O < A < B < AB$ [35]. Ces résultats suggèrent qu'une protéolyse différentielle ne peut expliquer, du moins en totalité, les différences de concentrations en vWF dues au système ABO. De plus, la première étude de clairance du vWF réalisée in vivo chez le rat semble écarter le fait que la clairance du vWF fasse intervenir un mécanisme de protéolyse. En effet, même si dans ce modèle, les multimères de haut poids moléculaire sont éliminés de la circulation plus rapidement que les formes dimériques, cet effet ne s'accompagne pas d'une apparition concomitante de bandes satellites de 176 et 140 kDa, caractéristiques du clivage du vWF par ADAMTS-13. Cette absence de protéolyse a également été confirmée dans un modèle canin de maladie de Willebrand (TableauII) [36].

C-Autres facteurs :

Parmi les facteurs environnementaux pouvant influencer la concentration plasmatique en vWF, on peut citer l'âge, le stress, ou encore le taux d'œstrogènes. Des variations du taux de vWF peuvent également être associées à une pathologie sous-jacente. Ainsi dans le diabète, l'athérosclérose, ou de façon plus générale toute inflammation chronique de l'endothélium, le taux de vWF est élevé en raison de la stimulation continue des cellules endothéliales qui le synthétisent. À l'inverse, d'autres pathologies comme l'hypothyroïdie, le lupus érythémateux systémique, des syndromes lymphoprolifératifs, ou encore des gammopathies monoclonales peuvent être associées à un taux très diminué de vWF par une variété de mécanismes non encore totalement élucidés. L'origine raciale contribue également aux différences observées dans les taux de vWF. Les individus d'origine africaine ont une concentration plasmatique en vWF

significativement plus élevée (de 15 à 18 %) que les individus d'origine caucasienne. Cette variabilité raciale intervient pour 7 % dans la variation totale de la concentration en vWF.

I.2.2.2 Bases moléculaires du mécanisme de clairance du vWF

Les études citées précédemment montrent donc clairement qu'il existe un certain nombre de facteurs génétiques et environnementaux qui sont susceptibles de moduler la concentration plasmatique en vWF, potentiellement en agissant sur le processus de clairance. Une partie importante de cette variation peut aussi être attribuée au gène du vWF lui-même. De nombreuses mutations ont ainsi pu être identifiées qui affectent de façon importante le taux de vWF. Les mécanismes décrits jusqu'à présent se placent majoritairement au niveau de la biosynthèse. Des anomalies de rétention cellulaire ont ainsi été rapportées. Une association entre certains polymorphismes au niveau du promoteur du vWF et le taux plasmatique de vWF a également été décrite [37]. Ce n'est que depuis très récemment qu'un nouveau mécanisme de maladie de Willebrand est de plus en plus envisagé : il s'agit de mutations qui engendrent une anomalie de clairance.

A)-Mutations dans le gène du vWF conduisant à un défaut de clairance [38,39,40]

La première mutation identifiée comme agissant sur la clairance du vWF a été la mutation dite *Vicenza*, mutation Arg1205His dans le domaine D3 du vWF. La première description signale en effet une anomalie de liaison du vWF muté aux plaquettes. Un taux de vWF entre 5 et 15 % a été mesuré chez les patients présentant cette mutation. En 2002, Casonato et al ont testé l'effet de la DDAVP chez les patients *Vicenza*. La DDVAP ou desmopressine est communément utilisée chez les patients atteints de maladie de Willebrand car elle permet la libération du vWF stocké dans les cellules endothéliales et conduit donc à une augmentation temporaire non seulement en vWF mais également en FVIII. Chez les patients *Vicenza*, l'administration de DDAVP conduit effectivement à une augmentation du taux de vWF jusqu'à des valeurs normales, mais le vWF ainsi sécrété semble disparaître de la circulation beaucoup plus rapidement que chez un sujet sain. Ce résultat suggère donc que la mutation R1205H entraîne une clairance accélérée du vWF mais ne le prouve pas directement car l'effet observé pourrait être dû à une autre mutation ou encore à des causes indirectes.

Tableau II : Récapitulatif des facteurs régulant la concentration plasmatique en vWF et mécanisme(s) associé(s) [36].

Facteur de régulation	Observation	Mécanisme(s) proposé(s)
Système ABO	Individus de groupe O ont un taux de vWF 30 % inférieur aux autres	Clairance différente selon profil de glycosylation
Système Sécréteur	Individus Se/Se ont un taux plus élevé en vWF	Clairance différente selon profil de glycosylation
Sialyltransférase ST3GalIV	Souris déficientes en ST3GalIV ont un taux réduit en vWF Patients avec une surexposition des chaînes N-acétylgalactosamine ont un taux très réduit en vWF	L'absence de sialylation entraîne la reconnaissance du vWF par le récepteur des asialoglycoprotéines et donc une clairance rapide
N-acétylgalactosaminyl-transférase-Galgt2	La souche murine RIIS/J présente un taux très bas en vWF	Clairance accéléré due au changement de spécificité cellulaire du gène modificateur galgt2 qui modifie le profil de glycosylation du vWF
Âge, stress, taux d'œstrogènes	Le taux de vWF augmente avec l'âge et la grossesse	Non déterminé
Inflammation chronique de l'endothélium	Le taux de vWF est augmenté dans le diabète ou l'athérosclérose	Les lésions endothéliales et la stimulation continue de l'endothélium augmentent la sécrétion de vWF
Pathologies sous-jacentes	Taux variables de vWF dans certaines pathologies	Divers
Race	Individus d'origine africaine ont un taux plus élevé de vWF que les caucasiens	Non déterminé
Mutations ou polymorphismes dans le gène du vWF	Des mutations ponctuelles peuvent conduire à des taux variables en vWF	Défaut de synthèse et/ou défaut de clairance

Pour une épreuve directe, une étude a été réalisée en utilisant des vWF recombinants reproduisant la mutation Vicenza, injectés à des souris déficientes en vWF suivi de dosage de la quantité de l'antigène résiduel par ELISA. Le vWF muté se trouve éliminé rapidement de la circulation. Dans ce système, il a été clairement établi que la mutation était directement responsable d'une clairance accélérée. Le vWF et son propeptide sont sécrétés ensemble et circulent séparément dans le plasma. Une molécule de propeptide est synthétisée avec chaque monomère de vWF, mais les deux protéines sont éliminées à des vitesses très différentes. Malgré tout, en conditions basales, le rapport propeptide/vWF mature reste constant. Lorsque le vWF est éliminé plus rapidement que la normale ce rapport est augmenté. Montgomery et coll ont mesuré les concentrations plasmatiques en vWF et en propeptide chez une trentaine de patients et ont ainsi pu identifier un groupe particulier qui présentait un rapport propeptide/vWF anormalement élevé, dont il est apparu qu'une mutation dans le domaine D4 du VWF (Ser2179Phe) provoquait une clairance accélérée chez ces patients. L'utilisation de ce test rapide de dosage du propeptide et du vWF plasmatique a également permis de mettre en évidence trois autres mutations agissant sur la clairance du vWF. Ces trois mutations affectent toutes des cystéines et sont localisées soit dans le domaine D3 du vWF (Cys1130Phe, Cys1149Arg) ou dans le domaine CK (Cys2671Tyr), et montrent qu'une même mutation peut conduire à un taux réduit de vWF en agissant à différents niveaux (synthèse et catabolisme). Le mécanisme par lequel ces différentes mutations peuvent affecter la clairance reste à élucider. Deux possibilités peuvent être envisagées :

- 1) Elles sont directement situées dans un domaine d'interaction avec le(s) récepteur(s) permettant la clairance du vWF.
- 2) Elles agissent en modifiant l'intégrité structurale de la protéine mutée qui est alors reconnue avec plus d'affinité par ces mêmes récepteurs.

B)-Identification des domaines du vWF impliqués dans sa clairance

Les mutations citées dans le paragraphe précédent et qui entraînent un défaut de clairance ont cette particularité d'être localisées dans différents domaines de la sous-unité du VvWF. Trois ont été localisées dans le domaine D3, une dans le domaine D4 et une dans le domaine CK du vWF. Ceci suggère que différentes régions du vWF sont potentiellement impliquées

dans l'élimination du vWF. L'étude réalisée sur une série de fragments recombinants montre que :

- (i) diverses régions du vWF sont impliquées dans son processus de clairance.
- (ii) la région A1-A3 contient un site d'interaction avec le récepteur responsable de l'élimination du vWF.
- (iii) les régions D'-D3 et D4-CK contiennent soit des sites d'interaction avec ce même récepteur et/ou des sites régulateurs qui permettent respectivement de réduire ou d'augmenter la clairance mettant en jeu la région A1-A3.

Le domaine D3 semble en tous cas être fortement impliqué dans le mécanisme d'élimination du vWF comme l'atteste l'identification des trois mutations situées dans ce domaine et qui affectent ce processus. Cette région contient de nombreuses cystéines et est également impliquée dans l'interaction avec le FVIII et avec le propeptide.

C)-Identification du (des) récepteur(s) cellulaires responsable(s) de l'élimination du vWF

Actuellement, aucune donnée n'est disponible concernant le récepteur impliqué dans la clairance du vWF. Différents mécanismes peuvent être à la base de l'élimination d'une protéine circulante : interaction avec un récepteur spécifique ou avec de multiples récepteurs, protéolyse, ou encore extravasation dans les tissus. Dans le cas du vWF, la protéolyse ne semble pas impliquée. De plus, considérant la taille du vWF, une clairance faisant intervenir un ou plusieurs récepteurs semble être le mécanisme le plus probable. Une étude sur le vVWF radiomarqué a permis de connaître la biodistribution de cette protéine. Il a ainsi été observé que le vWF est dirigé majoritairement vers le foie et peu vers les autres organes. Une exception cependant a pu être notée au niveau de l'estomac où la radioactivité commence à s'accumuler avec le temps tandis qu'elle diminue en parallèle dans le foie. Ceci semble assez caractéristique de l'absorption par l'estomac de petits peptides relargués par le foie. Ces résultats suggèrent donc qu'un récepteur exprimé par les cellules hépatiques est responsable de la clairance du vWF. Trois grands types cellulaires sont présents dans cet organe : hépatocytes, cellules endothéliales sinusoidales ou cellules de Kupffer.

I.3. Rôle du facteur Von Willebrand

Après sa libération de l'endothélium (et plaquettes), le vWF sert pour deux fonctions essentielles: il est le médiateur de l'adhésion et d'agrégation des plaquettes sur les sites d'une lésion vasculaire et il est la protéine transporteuse du FVIII coagulant (il module la survie et la fonction du facteur VIII). En effet, dans les conditions hémodynamiques propres (un taux de cisaillement élevé) et des molécules vWF hautement polymérisé sont nécessaires pour obtenir une adhérence efficace et l'agrégation plaquettaire.

I.3.1. Vue sur les fonctions du propeptide du facteur de Von Willebrand

Comme déjà cité, le propeptide de vWF joue un rôle important dans le contrôle du ciblage intracellulaire et la polymérisation du vWF. Au cours de la maturation de vWF, le propeptide est ensuite clivé du pro-vWF mais il est co-stocké dans les corps de Weibel-Palade et co-sécrété avec le vWF mature en réponse à la stimulation des cellules endothéliales plutôt que d'être sécrétées ou dégradées comme un produit des déchets. En effet, le taux plasmatique en propeptide (et vWF) est nettement augmenté dans des conditions cliniques connues d'être associé à une perturbation de l'endothélium, telles que la septicémie ou purpura thrombotique thrombocytopénique. Il a été pensé que, après sa libération, le propeptide est biologiquement inerte, mais cela n'est probablement pas le cas. Il possède aussi un certain nombre de fonctions qui pourraient jouer un rôle dans le contrôle des processus inflammatoires et d'adhésion cellulaire. Des études récentes ont indiqué que le propeptide héberge un certain nombre de sites qui interagissent avec les constituants du tissu conjonctif du sous-endothélium ainsi que des intégrines. La preuve a été obtenue que le propeptide vWF se lie spécifiquement au collagène de type I et est capable d'inhiber l'agrégation plaquettaire induite par le collagène [41,42]. Cet effet est probablement dû à une inhibition de l'interaction entre le collagène et le récepteur de collagène. Une analyse détaillée de la capacité de différents anticorps monoclonal anti-propeptide à interférer avec la liaison du propeptide-vWF au collagène, a révélé que le propeptide comprend au moins deux sites de liaison au collagène [43]. Un de ces domaines peptidiques se trouve dans la première région riche en Cys de la molécule de pro-peptide (Glu303-Lys397). Le deuxième site de liaison au collagène est situé dans une région riche en Cys près de la région C terminale du propeptide du vWF, s'étendant du résidu Phe592 au

Lys704. En particulier, la séquence WREPSFCALS (Trp642-Ser651) est impliquée dans la liaison au collagène. Bien que le propeptide vWF se lie préférentiellement à des fibrilles de collagène de type I natives, le fragment Phe592-Lys704 et le décapeptide se lient à plusieurs autres collagènes, à la fois avec l'état natif aussi bien que dans un état dénaturé par la chaleur. En outre, vWF mature héberge des sites de liaison au collagène. Les régions peptidiques impliquées dans celle-ci sont structurellement distinctes des sites de liaison du propeptide [44]. Le propeptide vWF a également été montré présent sur la surface des plaquettes. Comme les anticorps anti-propeptide peuvent induire l'activation et l'agrégation des plaquettes, il a été suggéré que le propeptide lié à la membrane pourrait servir un rôle dans le contrôle de la fonction plaquettaire [45]. La signification biologique du propeptide comme un modulateur de la fonction plaquettaire reste, toutefois, à établir. Quelques rapports ont démontré que le propeptide vWF est un substrat pour le facteur XIIIa de coagulation. Cette transglutaminase est capable de catalyser la réticulation du propeptide en laminine, un constituant de la matrice extracellulaire. Les résidus Gln (glutamine) présents dans le propeptide réagissent spécifiquement avec le facteur XIIIa comme acide aminé accepteur identifié. Seulement quatre des 40 résidus de Gln de propeptide agissent de cette manière, en soulignant la spécificité de l'interaction facteur XIIIa-propeptide. Comme la laminine a une variété de fonctions cellulaires, y compris son rôle comme un attachement cellulaire ou médiateur de la migration des cellules, il est tentant de spéculer que le propeptide pourrait jouer un rôle dans la modulation de ces processus.

I.3.2. Liaison au facteur VIII

Le vWF circule dans le plasma avec le FVIII sous forme de complexe non-covalent. Cette interaction assure la survie du FVIII dans la circulation. Tout changement dans le niveau de vWF plasmatique est couplé à un changement concordant dans la concentration plasmatique du FVIII (Un taux faible en vWF dans la maladie de Willebrand est également associé à un taux faible en FVIII plasmatique). De même, les défauts qualitatifs de vWF, comme dans le type 2N, peuvent abolir les interactions FVIII-vWF, ce qui diminue le niveau plasmatique du FVIII. Par ailleurs, dans des conditions cliniques associées à un niveau élevé de vWF telle qu'une

malignité, une septicémie ou une maladie du foie, le niveau de FVIII semble augmenter. De même, les stimuli physiologiques tels que l'exercice ou la grossesse augmentent également le niveau de vWF, avec une augmentation concomitante de FVIII. Ces exemples illustrent clairement que le vWF est essentiel pour la stabilisation du FVIII dans la circulation. Toutefois, le niveau plasmatique de vWF n'est pas influencé par celui du FVIII. La base moléculaire de la formation du complexe FVIII-vWF est bien élucidée, les domaines de polypeptides et de sites interactifs des molécules de vWF et FVIII qui interagissent mutuellement ont été identifiés [46]. Le N terminal du domaine D' du vWF comprend le principal site de liaison au FVIII. Seul dans sa forme dimère ce domaine est riche en Cys capable de se lier au FVIII, indiquant un mode complexe de l'interaction protéine-protéine. Chez les patients avec une affinité nettement diminuée (sinon normale) de leur vWF pour le FVIII (dite maladie de Willebrand type 2N), ont été identifiées des mutations sur le vWF qui abolissent sélectivement la liaison au FVIII. La majorité des mutations sont localisées sur le domaine D'. Dans la plupart (mais pas tous) des cas signalés, ces mutations n'affectent pas le taux plasmatique de vWF ou la réactivité du vWF avec les plaquettes ou le tissu conjonctif sous-endothélial. Seule l'affinité pour le FVIII est diminuée. Plusieurs études récentes indiquent que les résidus d'acides aminés dans le domaine D' sont critiques dans la stabilisation de la structure conformationnelle de ce domaine et, en conséquence, la liaison au FVIII. Les sites interactifs complémentaires pour vWF sur la molécule FVIII ont également été identifiés. Le vWF se lie non seulement au FVIII et contrôle ainsi sa survie biologique, mais aussi protège le FVIII de clivages protéolytiques prématurés et l'inactivation. La survie biologique et la dégradation protéolytique peuvent être interconnectées, même si une causalité relation n'a pas encore été identifiée. En effet, *in vivo*, les monomères vWF ne sont pas tous liés au FVIII. Une proportion relativement faible (1-2%) des monomères vWF sont disponibles et occupés par le FVIII [47]. Ces complexes sont relativement stables. Lors du déclenchement du système de coagulation, l'un des sites de liaison de vWF sur la molécule du FVIII est clivé, notamment par la thrombine, conduisant à la dissociation du complexe et la conversion subséquente du FVIII en sa forme active (FVIIIa). Par ailleurs, le vWF inhibe l'interaction entre le FVIII et différentes protéases du système de coagulation, y compris le facteur IX, le facteur X, la protéine C et, ainsi que les phospholipides membranaires chargés négativement, en empêchant ainsi l'activation prématurée du système de coagulation.

Ces interactions sont susceptibles de jouer un rôle important dans le contrôle de la réponse hémostatique à une lésion vasculaire. Au total, il semble raisonnable de supposer que la diminution de la demi-vie du FVIII en absence de vWF est causée par le clivage prématuré du FVIII et la suivante clairance accrue de la molécule de FVIII modifié par protéolyse. D'autres données récentes ont montré que vWF pourrait aussi contrôler la demi-vie biologique de FVIII en contrôlant son interaction avec les lipoprotéines de basse densité (low-density lipoprotein receptor-related protein : LRP) [48]. LRP est un récepteur multifonctionnel impliqué dans la clairance de plusieurs ligands, y compris les protéases, les complexes protéases-inhibiteur, lipases, et des apolipoprotéines de la circulation. LRP se lie également au FVIII et sert de médiateur de son internalisation cellulaire et de la dégradation. Ces procédés sont inhibés par vWF.

I.3.3. Hémostase primaire

Le vWF fonctionne pour soutenir la formation de thrombus non seulement en ce qui concerne le maintien de l'adhésion des plaquettes aux sites de blessure, mais aussi la cohésion plaquette-plaquette ou l'agrégation. Les plaquettes répondent rapidement aux modifications de cellules endothéliales en se fixant fermement au site de la lésion où l'exposition de la composante sous-endothéliales a pu se produire. La première couche de plaquettes est en contact avec la surface thrombogène (adhérence), tandis que la croissance ultérieure du caillot hémostatique dépend de plaquettes à plaquettes interactions (agrégation). Les deux aspects de la fonction plaquettaire sont influencés par des interactions de vWF avec des récepteurs spécifiques membranaires plaquettaires [49]. Plusieurs domaines de vWF sont impliqués dans l'initiation et la croissance des bouchons de plaquettes. La séquence des événements paraît être la suivante :

- Liaison du vWF à des constituants du sous-endothélium.
- Changement de conformation du vWF lié.
- Liaison de ce vWF à la glycoprotéine plaquettaire Ib, permettant l'adhésion initiale des plaquettes.
- Activation plaquettaire et exposition de la GPIIb-IIIa sur la membrane plaquettaire.

- Liaison du vWF à la GPIIb-IIIa permettant l'étalement des plaquettes, leur adhésion irréversible et leur agrégation.

A. Adhésion plaquettaire

Il s'agit d'un phénomène passif induit par la rencontre des plaquettes circulantes avec les structures sous-endothéliales hautement thrombogènes comme le collagène, mises à nu par la rupture de la couche endothéliale. Dans un champ d'écoulement avec la vitesse de cisaillement supérieure à une valeur de seuil (en circulation humaine autour de 1000 s⁻¹), seule interaction GP Iba avec multimères vWF immobilisés (par exemple lié au collagène) peut initier le tethering de plaquettes circulantes à la paroi du vaisseau [50-51]. Le vWF peut se lier à différents types de collagènes (I à VI). Deux sites de liaisons distincts pour les collagènes fibrillaires types I et III ont été localisés à des segments spécifiques dans les domaines A1 et A3 du vWF, et un troisième domaine a été identifié dans le propeptide ; le domaine A3 de fixation du collagène est le plus important. En effet, le vWF peut encore se lier à la matrice extracellulaire débarrassée de ces molécules après traitement par la collagénase. Le vWF peut aussi se lier au collagène non fibrillaire type VI, qui est résistant à la collagénase et qui cohabite avec lui au niveau du sous-endothélium. Le collagène type VI est le support de liaison pour le VWF sous forces de cisaillement élevées grâce à des interactions coopératives entre des sites de liaison dans les domaines A1 et A3 du vWF [52]. La liaison de la GP Iba au domaine A1 du vWF se produit rapidement et c'est l'interaction adhésive essentielle qui peut attacher les plaquettes à une surface lorsque la vitesse de cisaillement est élevée. Cette interaction prend en charge les obligations transitoires initialement, et la translocation de plaquettes captives peut se produire. Le résultat final est l'adhésion stable des plaquettes recrutées à la surface. A des vitesses de cisaillement plus faibles, les fonctions adhésives de vWF ne sont plus indispensables pour la fixation initiale à une surface thrombogène, et les récepteurs de collagène (entre autres) peuvent permettre des interactions adhésives stables pour les former rapidement (Figure27).

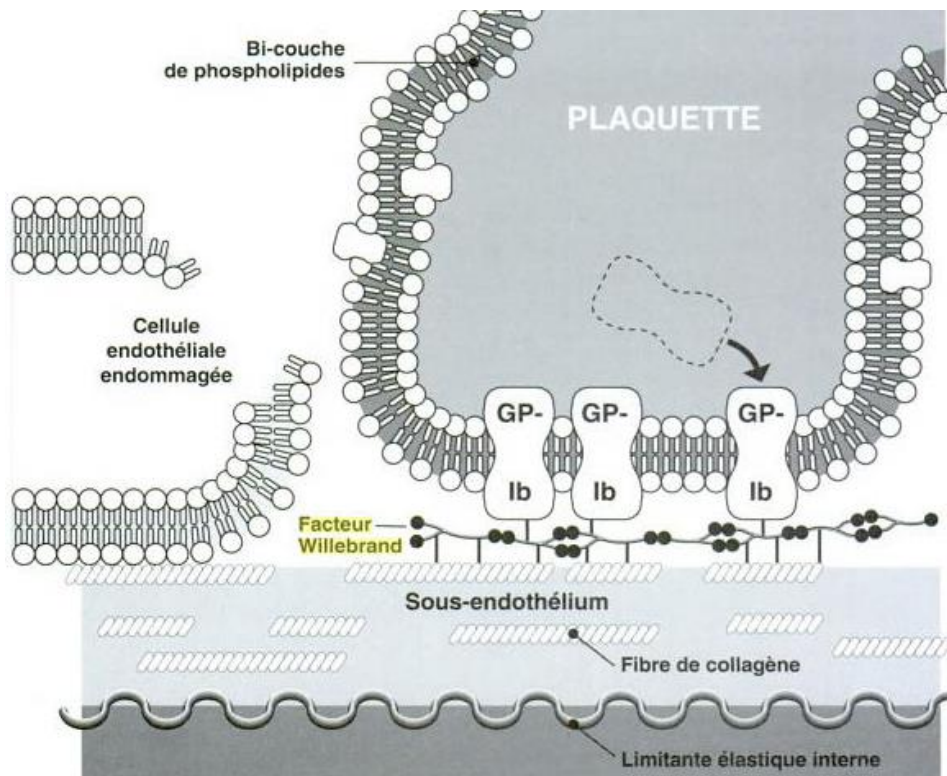


Figure 27 : Base moléculaire de l'adhésion plaquettaire [53].

B. Agrégation plaquettaire

Le vWF peut également se lier à un deuxième récepteur plaquettaire, l'intégrine α IIb β 3 (GpIIbIIIa), et l'activation de cette intégrine se produit au cours de l'attache transitoire, principalement grâce à la signalisation initiée par des récepteurs membranaires qui se lient au collagène ou d'autres composants des surfaces thrombogéniques exposées, ou répondent à une stimulation par des agonistes libérés (par exemple ADP) ou générés (par exemple α -thrombine) localement. Il est estimé que ces complexes GpIIbIIIa occupent 50% de la surface plaquettaire, leur émergence à la surface forme la structure de base de la voie finale comme de l'agrégation plaquettaire. En présence du calcium ionisé, le fibrinogène se combine aux complexes GpIIbIIIa, ces derniers ayant une grande affinité pour la séquence d'acides aminés Arg-Gly-Asp qui est présente dans la molécule du fibrinogène pour former des ponts interplaquettaires qui permettent la formation de l'agrégat. La liaison à l'intégrine GpIIbIIIa se fait aussi au niveau d'une même séquence peptidique Arg-Gly-Asp-Ser (RGD) présente sur le domaine C1 de 1744 à 1747 acides aminés de la sous-unité mature de VWF et sur la molécule

de la fibronectine [53-54]. En l'absence du fibrinogène ou lorsque la concentration locale de vWF est augmentée (par sécrétion des cellules endothéliales ou des plaquettes), le vWF peut aussi permettre l'agrégation plaquettaire en se liant à ce récepteur. A taux de cisaillement élevés, le vWF serait la seule protéine responsable de l'agrégation plaquettaire (Figure 28).

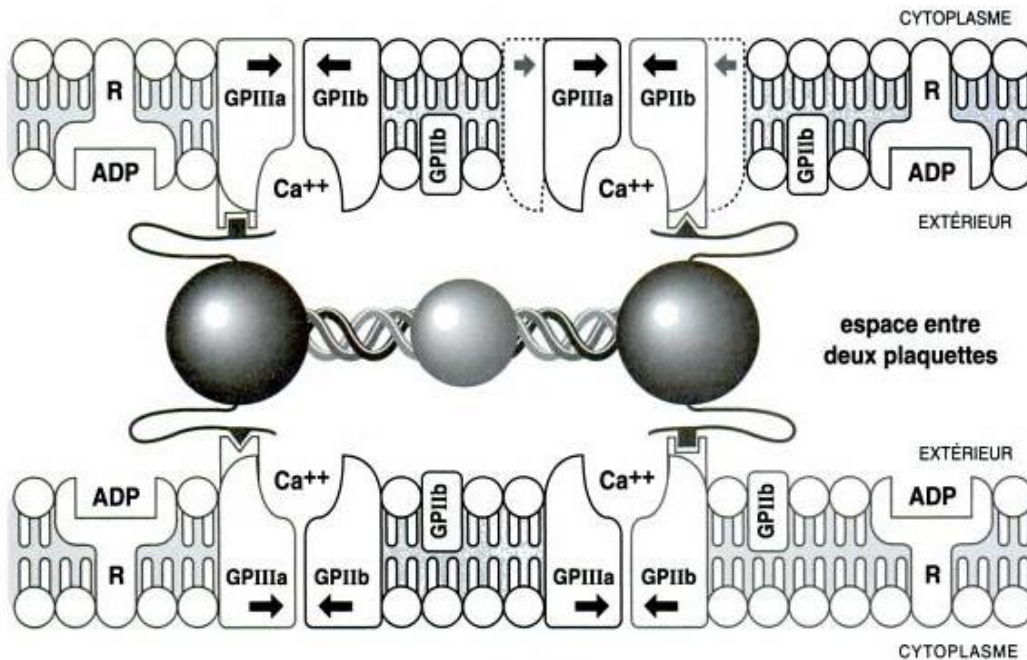


Figure 28 : Base moléculaire de l'agrégation plaquettaire [53].

I.3.4 Nouvelles perspectives [1]

Au-delà de son rôle essentiel dans l'hémostase, le vWF est impliqué dans des processus pathologiques variés : inflammation, angiogenèse, prolifération cellulaire et apoptose.

A. La Thrombopoïèse

Le vWF intervient à différents stades de la thrombopoïèse. Une anomalie de la maturation mégacaryocytaire a ainsi été reportée en présence de la mutation R1308P responsable d'une MW de type 2B. Plus récemment, une étude suggère l'importance conjuguée du vWF et des forces de cisaillement pour la maturation terminale des proplaquettes en plaquettes discoïdes dans la circulation [55].

B. Rôle pro-inflammatoire du vWF

- *vWF et inflammation tissulaire*

Le vWF joue un rôle actif dans la réaction inflammatoire, qui ne se limite pas à l'adressage de la P-sélectine aux corps de Weibel-Palade, étape essentielle à l'expression membranaire de ce récepteur endothélial impliqué dans le recrutement leucocytaire. La formation de complexes vWF-plaquettes à la surface de l'endothélium activé semble ainsi jouer un rôle important dans le recrutement des leucocytes circulants sur le site de l'inflammation. Ces complexes vWF-plaquettes favoriseraient les étapes de rolling et d'adhésion leucocytaire et secondairement l'extravasation leucocytaire. Ces observations concordent avec la découverte de plusieurs récepteurs membranaires leucocytaires pour le vWF (PSGL-1, β 2 intégrine et Siglec-5) et avec une étude récente qui suggère l'intérêt d'une inhibition ciblée du vWF pour réduire l'inflammation tissulaire in vivo [1].

- *vWF et immuno-thrombose*

Le paradigme d'immuno-thrombose attribue un rôle essentiel à l'inflammation dans les processus thrombotiques veineux et artériels. L'implication récente du vWF dans la physiopathologie de la maladie thromboembolique veineuse et de l'infarctus cérébral, via ses propriétés prothrombotiques et pro-inflammatoires, témoigne de cette interconnexion entre thrombose et inflammation. L'interaction vWF-GpIb α serait essentielle au recrutement des plaquettes et à l'interaction entre plaquettes et cellules de l'immunité innée observée à la phase initiale de la TVP. Secondairement, l'interaction entre vWF et les « neutrophil Extracellular Traps » (NETs), sécrétés par les leucocytes activés, favoriserait la propagation du processus thrombotique. La lutte contre l'inflammation constitue également un nouvel axe de recherche dans l'infarctus cérébral afin de diminuer les phénomènes thrombo-inflammatoires à l'origine de lésions d'ischémie-reperfusion (I/R), sur lesquels la thrombolyse semble peu efficace [1].

C. Rôle anti-angiogénique du vWF : un lien entre angiodyplasie et MW ?

Le vWF régule négativement l'angiogénèse. Dans un modèle de culture endothéliale (HUVEC) où l'expression du VWF est inhibée par siRNA, l'absence de vWF endothélial inhibe la prolifération cellulaire et l'angiogénèse induites par le VEGF, l'expression membranaire de

l'intégrine $\alpha\beta 3$ et augmente la libération endothéliale d'angiopoïétine 2. Ces études ont soulevé un vif intérêt en mettant en évidence un lien potentiel entre MW et angiodyplasie, malformation vasculaire attribuée à une anomalie du processus angiogénique [1].

D. Rôles du vWF dans la prolifération cellulaire et l'apoptose

De façon inattendue, le vWF a récemment été impliqué dans l'induction de mécanismes pro-apoptotiques. L'interaction vWF-GpIb α pourrait dans certaines conditions induire l'apoptose plaquettaire. L'interaction vWF-intégrine $\alpha\beta 3$ aurait un effet antiprolifératif sur certaines lignées tumorales en entraînant l'apoptose des cellules cancéreuses. Inversement, certaines tumeurs pourraient développer un mécanisme d'échappement à cet effet anti-tumoral du vWF, via la synthèse d'une protéase capable de cliver les multimères de vWF. Le lien récent établi entre le vWF et l'artériopathie cérébrale CADASIL (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy) soulève de nouvelles interrogations sur l'implication du vWF dans le remodelage de la paroi vasculaire. En cas de dépôts importants de vWF dans l'intima, l'interaction entre vWF et cellules musculaires lisses se traduirait par une modification délétère du phénotype de ces cellules, en lien avec l'induction de voies de signalisation intracellulaires spécifiques [1].

II. PHYSIOPATHOLOGIE, EPIDEMIOLOGIE ET CLASSIFICATION

1. Physiopathologie et épidémiologie

La maladie de Willebrand a été décrite pour la première fois en 1926 par Erik Von Willebrand, médecin interniste né en Finlande, chez plusieurs membres d'une famille de l'archipel d'Aaland, situé en mer Baltique. Dans cette famille, il a décrit une fillette de 5 ans présentant de graves symptômes hémorragiques depuis la naissance. Trois de ses sœurs étaient mortes d'hémorragie avant l'âge de 4 ans. Deux autres sœurs et trois frères étaient indemnes de toute symptomatologie hémorragique. Ses parents et deux autres frères présentaient des manifestations cliniques hémorragiques de moindre intensité. Ceci suggérait une maladie à transmission autosomale dominante. Erik Von Willebrand distingua cette maladie des autres maladies hémorragiques congénitales déjà individualisées, comme l'hémophilie et la thrombasthénie de Glanzmann, et utilisa le terme de "pseudohémophilie".

Dans l'année 1953, il a été mis en évidence que les patients atteints de la maladie de Willebrand avaient un taux de FVIII abaissé. Les saignements et le déficit en FVIII étaient corrigés par la transfusion de concentrés plasmatiques riches en FVIII, indiquant que la maladie était due à un déficit d'une protéine sanguine. L'explication de l'allongement du temps de saignement fut apportée par Salzman qui mit en évidence, grâce à une colonne de billes de verre, une adhésivité plaquettaire diminuée.

Il fallut attendre 1972 pour que le facteur VIII circulant soit séparé de son support, par des techniques immuno-histochimiques, aboutissant à une molécule plus volumineuse de structure complexe et dépourvue d'activité procoagulante dite le facteur Von Willebrand (vWF). La même année Howar et Firkin observèrent qu'un antibiotique, la ristocétine, agglutinait les plaquettes saines et non les plaquettes Willebrand. Cette activité, supportée par le vWF:Ag, a permis la mise au point de techniques de dosage de ce facteur déficitaire dans la maladie de Willebrand (activité cofacteur de la ristocétine). L'application des tests vWF : Ag et vWF : RCo ont permis à la fin des années 1970 de caractériser différents types de la maladie de Willebrand. Homberg et Nilson en Suède, Peake en Angleterre, Meyer en France, Barbui en Italie ont pu décrire différents variants génétiques avec un fort degré d'hétérogénéité dans leurs populations respectives. Les nouvelles techniques électrophorétiques telles que l'électrophorèse croisée ou la technique en gel d'agarose mettent en évidence la structure du vWF composé de séries d'oligomères atteignant des poids moléculaires de 20KDa. Au début des années 1980, les premières grandes études épidémiologiques révélèrent la haute fréquence des déficits en vWF.

Ruggeri et Zimmermann ont décrit en 1980 une structure multimérique anormale du vWF dans les variantes 2A et 2B ; puis de nombreux autres laboratoires ont par la suite utilisé la même technique pour identifier d'autres variants caractérisés par la perte de multimères de haut poids moléculaire et une structure interne anormale du vWF. La connaissance de cette pathologie et de différents variants bénéficia grandement des avancées de la biologie moléculaire et de la biologie cellulaire. Ainsi le clonage en 1985 du gène vWF réussi indépendamment par les groupes de Lynch, Ginsburg, Verweji et Sadler améliora la compréhension des bases moléculaires de la maladie de Willebrand. Les études de la biosynthèse complexe du vWF par Wagner aux USA et par Romani de Wit et Van Mourik en Europe renseignèrent sur des

événements cellulaires pouvant conduire à une synthèse et à une organisation du vWF anormales. Plusieurs mutations localisées dans les domaines spécifiques du vWF ont été retrouvées dans les sous-types 2A, 2B et 3. D'autres sous-types ont ensuite été décrits, et en 1994, Salder publia une nouvelle classification de la maladie de Willebrand. Une base de données des mutations géniques a été établie. L'utilisation des marqueurs cliniques et biologiques dans le diagnostic et la prise en charge de la maladie de Willebrand a plus récemment fait l'objet de grandes études prospectives qui se sont également intéressées à la maladie de Willebrand acquise. L'ensemble de ces études rétrospectives et prospectives, a abouti à une meilleure prise en charge thérapeutique de cette diathèse hémorragique, notamment en périopératoire [56,57].

Par ailleurs, la maladie de Willebrand est l'anomalie constitutionnelle de l'hémostase la plus fréquente. Deux grandes études épidémiologiques menées dans une population majoritairement pédiatrique, présentant des antécédents hémorragiques et un déficit en vWF, ont déterminé une prévalence de près de 1%. La prévalence réelle de la maladie de Willebrand est difficile à déterminer. En revanche, les estimations fondées sur la prise en charge des formes symptomatiques (manifestations hémorragiques ayant nécessité une hospitalisation et le plus souvent, un traitement par médicaments dérivés du sang) indiquent une prévalence d'environ 100 cas par million (soit 0,01 %), ce qui est similaire à la prévalence de l'hémophilie A. Au sein de ces formes symptomatiques de la maladie de Willebrand, la prévalence de la forme sévère (déficit total en vWF, de transmission récessive) est de l'ordre de 1 cas par million (soit 0,0001 %). En plus, des déficits modérés en vWF peuvent ne pas être associés à des anomalies moléculaires du gène du vWF, et la plupart des symptômes hémorragiques peuvent également être retrouvés dans une population saine [58,59].

2. Classification

La mise à jour la plus récente de la classification de la Willebrand reconnaît 6 types différents, dont 3 « grands types » : type 1 (déficit quantitatif partiel), type 2 (déficits qualitatifs ou variants moléculaires subdivisé en 4 types : 2A, 2B, 2M et 2N) et type 3 (déficit quantitatif total). Ces divers types et sous-types, correspondant à des mécanismes physiopathologiques distincts (Tableau III).

Type 1 (70% des cas) : est défini par un déficit quantitatif partiel en vWF.

Type 2 (20-25%): synthèse quantitativement normale ou modérément diminuée de vWF, mais qualitativement anormal (variants moléculaires).

- Type 2A : défaut de liaison du vWF à la GPIIb due à l'absence des multimères de HPM.
- Type 2B : affinité anormalement élevée du vWF pour la GPIIb (donc agglutination constante aux plaquettes et thrombocytopenie).
- Type 2M : défaut de liaison du vWF à la GPIIb avec profil multimérique normal.
- Type 2N : défaut de liaison du vWF au FVIII

Type 3 (<5% des cas) : est dû à un déficit quantitatif total avec un taux plasmatique de vWF très effondré et même indétectable.

Tableau III: Classification de la maladie de Willebrand [1].			
Type	Sous-type	Mode de transmission	Mécanisme
Type 1		Dominante (pénétrance intrafamiliale variable.)	Déficit quantitatif partiel en vWF (anomalies sécrétion, protéolyse ou clairance)
Type 2	2A	Dominante (rares formes récessives)	Diminution de la proportion des formes de plus haut poids moléculaire résultant en un défaut interaction vWF-plaquettes
	2B	Dominante	Gain interaction vWF-plaquettes
	2M	Dominante	Défaut interaction vWF-plaquettes et/ou défaut interaction vWF-collagène non lié à un défaut des formes moléculaires les plus lourdes
	2N	Récessive	Défaut interaction vVWF-FVIII
Type 3		Récessive	Déficit quantitatif total en vWF

La transmission du déficit se fait le plus souvent sur un mode autosomal dominant, à l'exception des types 3, des types 2N ainsi que de rares variants 2A qui sont à transmission récessive. La distribution des mutations sur le gène vWF est répartie sur l'ensemble du gène dans les types 1 et 3 alors que pour les types 2 les mutations sont localisées à proximité des sites fonctionnels d'interaction [1,3].

2.1. Type 1

Le type 1 est défini comme un déficit quantitatif partiel en vWF, se traduisant par une diminution harmonieuse des taux protéique (vWF:Ag) et fonctionnel (activité cofacteur de la ristocétine, vWF:RCo) ainsi que du FVIIIc, et par la présence de tous les multimères de vWF. C'est le type le plus fréquent, regroupant 70 à 80 % des patients atteints de MW. Malgré une transmission autosomale dominante, la pénétrance intrafamiliale du phénotype hémorragique et la probabilité de retrouver une mutation sur le gène vWF varient selon l'intensité du déficit. Pour des taux de VWF:Ag < 30UI/dl, le génotypage objective habituellement une mutation à forte pénétrance (effet « dominant négatif ») affectant la sécrétion ou la clairance du vWF.

Inversement, pour des taux compris entre 30 et 50 UI/dl, les rares mutations mises en évidence (mutations faux-sens ou altération de site d'épissage) révèlent une absence de co-ségrégation avec le phénotype hémorragique.

Ceci suggère l'influence de polymorphismes, encore non identifiés, sur des gènes modulateurs (hors locus vWF) mais également un probable chevauchement entre sujets sains (notamment de groupe O) et sujets atteints de MW type 1 modérée pour des taux compris entre 30 et 50 UI/dl. Certaines des mutations décrites dans le type 3 à l'état homozygote ou double hétérozygote ont été mises en évidence dans le type 1. Des mutations particulières localisées dans le domaine D3 et responsables d'un déficit profond ont aussi été décrites.

Il peut être difficile de porter le diagnostic dans les formes les plus modérées, et de les distinguer d'un sujet de groupe sanguin O avec un taux de vWF à la limite inférieure de la normale.

Trois critères sont indispensables pour affirmer le diagnostic : l'existence de symptômes hémorragiques, un taux de vWF inférieur à la normale à plusieurs reprises, et des antécédents familiaux. La réponse thérapeutique à la dDAVP est généralement satisfaisante.

Le type 1 peut être subdivisé en fonction du contenu en vWF des plaquettes, qui peut être normal ou diminué, suggérant l'existence de différentes anomalies moléculaires dont la mise en évidence reste difficile.

2.2. Type 2 (Figure 29)

La maladie de Willebrand de type 2 est moins courante que le type 1, représentant 15 à 20% des cas de la maladie. Les variants moléculaires (type 2) sont caractérisés par une anomalie qualitative du vWF. Quatre grands sous-types ont été décrits (Tableau III). Dans les types 2A, 2B et 2M, c'est une anomalie d'interaction du vWF avec les plaquettes, dépistée généralement par une diminution du rapport vWF:RCo/vWF:Ag.

Dans le type 2N, c'est une anomalie de l'interaction du vWF avec le FVIII, dépistée par une diminution du rapport FVIII/vWF:Ag.

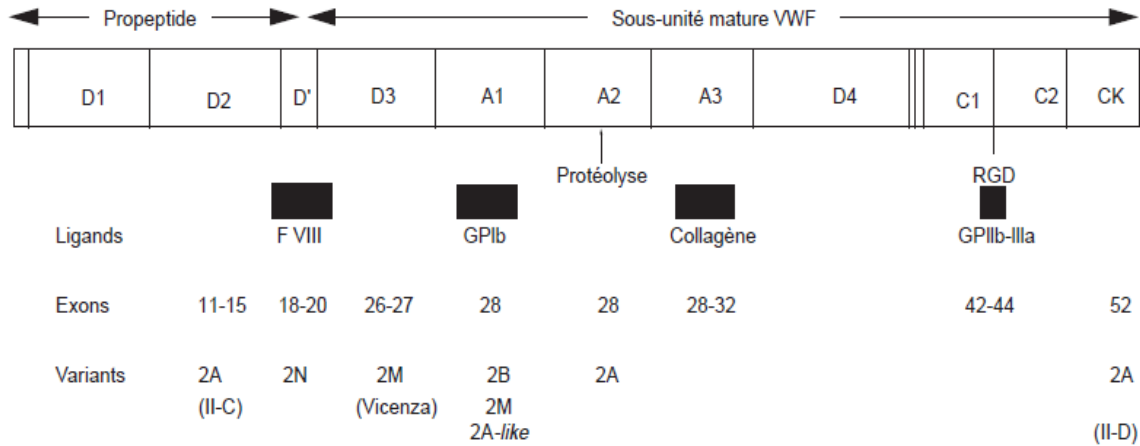


Figure 29 : Localisation des anomalies moléculaires dans les variants de MW [3].

2.2.1. Sous-type 2A

C'est le premier variant moléculaire qui ait été décrit (sous le nom de IIA dans l'ancienne nomenclature), du fait d'une migration plus rapide du vWF par électrophorèse bidimensionnelle. Les publications les plus anciennes indiquent qu'il est le plus fréquent des variants, mais cette notion est actuellement contestée. Le temps de saignement est constamment allongé, les taux de vWF:RCo sont notablement plus abaissés que ceux du vWF:Ag. L'agrégation en présence de faibles doses de ristocétine est absente et très diminuée en présence de fortes doses. Les multimères de PM intermédiaire et ceux de PM plus élevé sont absents dans le plasma, variables dans les plaquettes. L'étude de liaison du vWF aux plaquettes induite par la ristocétine ou la botrocétine objective la diminution d'affinité du vWF pour la GPIIb. Le stress ou la grossesse, qui augmentent le taux de synthèse du vWF, ne corrigent cependant pas l'anomalie de répartition des multimères dans le plasma, et les patients sont exposés aux saignements lors d'un accouchement ou en situation postchirurgicale. La transmission est dominante. Le type 2A (IIA) est aussi le premier variant défini au niveau moléculaire. Il a été montré que les mutations responsables de l'anomalie chez ces patients siégeaient essentiellement autour du site de protéolyse physiologique (Y1605-M1606) dans le domaine A2. L'expression dans des cellules eucaryotes de vWF recombinant muté, et l'étude de sa structure et de sa fonction, suggèrent l'existence de deux mécanismes moléculaires responsables de l'absence des multimères de haut PM chez ces variants, pouvant expliquer la

variabilité de réponse à la dDAVP. Dans les deux cas, l'absence de multimères de haut PM conduit à une diminution d'affinité pour la GPIb plaquettaire.

- Dans le groupe 1, les mutations altèrent la biosynthèse du vWF et son transport intracellulaire, entraînant une sécrétion partielle des multimères de bas PM.
- Dans le groupe 2, tous les multimères de vWF sont présents dans les plaquettes et sécrétés dans le plasma, mais les mutations induisent un changement de conformation du vWF pouvant le rendre plus sensible à la protéolyse. Environ 25 mutations ont été décrites. Deux mutations sont particulièrement fréquentes (R1597W et I1628T).

On ne sait toujours pas bien pourquoi une mutation induit l'un ou l'autre mécanisme.

Sous-types IIC, IID, IIE (actuellement classés dans le type 2A)

Ces variants de l'ancienne classification présentent aussi les caractéristiques du type 2A, c'est-à-dire une diminution de l'affinité du vWF pour les plaquettes, liée à l'absence de multimères de haut PM. Autrefois reconnus grâce à une électrophorèse de très haute résolution, objectivant un profil multimérique particulier, ils sont maintenant identifiés grâce à la localisation de la mutation et l'expression du vWF recombinant muté.

Un défaut moléculaire (mutation faux sens, insertion ou délétion) dans le domaine D2 est responsable du type IIC, dont la transmission est autosomique récessive. Ces mutations au niveau du propeptide entraînent une anomalie de multimérisation, comme cela a été montré par mutagenèse. Une mutation dans le domaine carboxyterminal CK, qui détruit un pont disulfure nécessaire à la dimérisation, a été décrite dans le sous-type IID. Très récemment, des mutations de cystéines du domaine D3 ont été décrites dans le sous-type IIE (Figure 29).

2.2.2. Sous-type 2B

La transmission est généralement dominante. Les patients ont le plus souvent une diminution du rapport vWF:RCo/vWF:Ag et une agrégation plaquettaire normale en présence de faibles doses de ristocétine. Les multimères de plus haut PM du vWF se lient spontanément aux plaquettes in vivo, ce qui peut entraîner une thrombopénie. Ainsi, les multimères de haut PM sont absents dans le plasma. La symptomatologie hémorragique est variable et peut être

due à la perte des multimères de haut PM et/ou au fait que le vWF adsorbé sur les plaquettes ne peut plus se lier au sous endothélium.

L'administration de desmopressine, qui peut exacerber la thrombopénie est controversée. Les mutations responsables de ce type de MW sont toutes localisées dans la même région du domaine A1, entre les acides aminés 1266 et 1461. Quatre mutations sont particulièrement fréquentes (R1306W, R1308C, V1316M et R1341Q), responsables de 90 % des MW de type 2B. Des mutations de type 2B ont parfois été mises en évidence chez des patients de phénotype 2A. En fait, le vWF recombinant correspondant présente bien une forte augmentation d'affinité pour la GPIIb, ce qui entraîne l'absorption des multimères de PM intermédiaire et élevé, et les multimères de faible PM du vWF qui restent en circulation sont incapables de se lier aux plaquettes.

Type 1 « New York » ou phénotype « Malmö »

Les patients classés parmi le type 1 « New York » ou le phénotype « Malmö » de l'ancienne classification appartiennent aussi au type 2B, leur vWF montrant une augmentation d'affinité pour les plaquettes. Il y a également une agrégation du plasma riche en plaquettes en présence de faibles doses de ristocétine. Cependant, tous les multimères sont présents dans le plasma. La symptomatologie hémorragique est le plus souvent modérée, et les patients ne développent généralement pas de thrombopénie. Ces phénotypes sont dus pour la plupart à la même mutation P1266L.

2.2.3. Sous-type 2M

Dans ce variant, il existe une diminution de l'interaction du vWF avec les plaquettes, mais la distribution plasmatique des multimères est normale ou quasiment normale (M pour multimère). Ainsi, les patients présentent un rapport vWF:RCo/vWF:Ag très diminué, alors que le rapport vWF:CB/vWF:Ag est normal. De même, la liaison du vWF aux plaquettes induite par la ristocétine est diminuée, mais normale ou subnormale en présence de botrocétine.

Différentes anomalies moléculaires ont été décrites dans le domaine A1.

Les patients atteints du variant « Vicenza » sont classés dans le type 2M de MW. Ce variant est caractérisé par un déficit profond et parallèle en vWF:RCo et vWF:Ag et la présence de multimères de très haut PM dans le plasma. Une mutation candidate en cours dans le domaine

A3 (R1205H) a été décrite, et plus récemment une deuxième mutation candidate (M740I) a été identifiée au niveau de l'exon 17.

2.2.4. Sous-type 2N

Le type 2N, caractérisé par une diminution de l'affinité du vWF pour le FVIII, a été aussi individualisé sous le nom de variant « Normandie », décrit originalement par des équipes françaises, pour des patients originaires de Normandie. Le phénotype des patients est plus proche d'une hémophilie A mineure que des autres formes de MW. En effet, il existe un déficit en FVIII, alors que les taux de vWF sont normaux. La répartition des multimères est également normale en dehors de rares cas. Le rapport FVIII/vWF:Ag est toujours nettement diminué (< 0,5). C'est l'étude de la liaison du vWF au FVIII qui permet le diagnostic. Ce test n'est réalisé que dans quelques laboratoires spécialisés. La symptomatologie hémorragique est généralement modérée, apparaissant après chirurgie ou traumatisme. Les hémarthroses sont exceptionnelles et des saignements cutanéomuqueux peuvent se voir chez les patients qui ont aussi des taux abaissés de vWF ou une anomalie de la multimérisation.

Les mutations responsables sont localisées dans les exons 18-27 du gène du vWF (domaines D' et D3), le plus souvent dans les exons 18-20, affectant les acides aminés localisés dans le domaine de liaison au FVIII (aa 764 à 1035 du prépro-vWF). Quelques mutations ont également été mises en évidence dans les exons 21-27, modifiant les aa 1053, 1060 et 1225. Les patients sont homozygotes ou double hétérozygotes, et la mutation R854Q est la plus fréquente. Certains patients sont hétérozygotes composites type 2N/type 3, et peuvent avoir un déficit en vWF.

II.2.3. Type 3

C'est la forme la moins fréquente (1 à 3%), mais la plus sévère de la maladie de Willebrand, Sa transmission est autosomale récessive. Il se caractérise par un déficit quantitatif total en VWF, secondaire au génotype homozygote ou hétérozygote composite. Les patients présentent dès la petite enfance des manifestations hémorragiques souvent préoccupantes. Le temps de saignement est constamment très allongé. Le vWF (VWF:Ag et vWF:RCo) est effondré voir indétectable dans le plasma, les plaquettes et les cellules endothéliales. Les taux de FVIII sont très diminués (< 10 UI/dL), mais restent mesurables, entraînant des hémorragies spontanées des tissus et des articulations.

Ces patients ne peuvent pas être traités par la dDAVP puisque leurs cellules endothéliales ne contiennent pas de vWF. En cas de déficit virtuellement complet en vWF (délétion complète homozygote), le traitement substitutif peut se compliquer d'une allo-immunisation anti-vWF associée à des manifestations anaphylactiques lors de l'apport exogène de vWF. La prévalence de ces anticorps a été estimée entre 7,5 et 9,5 %.

Les anomalies moléculaires responsables du type 3 peuvent être localisées sur presque tout le gène du vWF (exons 3 à 52). Il peut s'agir de délétions ponctuelles ou totales, de mutations non-sens ou de toute autre anomalie. Ce sont les patients qui ont de grandes délétions ou des mutations non-sens qui peuvent développer des alloanticorps anti-vWF.

III. MANIFESTATIONS CLINIQUES

Les symptômes varient selon le degré de sévérité et le sous-type de la maladie. La symptomatologie hémorragique reflète principalement l'anomalie de l'hémostase primaire. Ainsi, la MW est surtout caractérisée par des hémorragies muqueuses (épistaxis, gingivorragies, saignements utérins...) et cutanées (ecchymoses) [60]. Les manifestations cliniques peuvent être, soit spontanées, soit provoquées par un traumatisme minime. Elles sont particulièrement fréquentes après une avulsion dentaire, un acte chirurgical ou un traumatisme. Les hémorragies amygdaliennes spontanées, parfois profuses, sont plus particulièrement évocatrices. La symptomatologie est assez modérée, sauf dans le type 3 ou dans certains types 2 où les hémorragies peuvent mettre en jeu le pronostic vital. À l'inverse de l'hémophilie, les hématomes et hémarthroses sont rares et ne s'observent que dans les formes où il existe un déficit important en FVIII (type 3 et type 2N). Les formes frustes ne sont fréquemment révélées qu'à l'apparition des règles, lors d'actes opératoires, ou à l'occasion d'un bilan d'hémostase systématique. La grande inégalité d'intensité des manifestations hémorragiques d'un cas à l'autre explique que l'âge de découverte de l'affection soit extrêmement variable. Au cours de la vie, chez un sujet donné, les manifestations hémorragiques sont assez irrégulières dans leur apparition, des phases paisibles alternant avec des phases hémorragiques, mais la tendance hémorragique s'atténue avec l'âge. Dans une même famille, l'intensité de la maladie peut différer d'un sujet à l'autre.

Le vWF étant une protéine de l'inflammation, son taux augmente donc dans différentes situations : infection, période postopératoire, stress...

Le diagnostic peut alors être difficile et les patients doivent être étudiés à différentes reprises. Bien que la transmission autosomique de la MW prédise une fréquence égale parmi les deux sexes, la prévalence de la maladie est plus importante chez les femmes, qui sont confrontées au risque hémorragique lors des règles et des accouchements contribuent à une prévalence supérieure des manifestations cliniques de la maladie chez les femmes, de l'ordre de 60 % [61]. Les hémorragies chez les femmes atteintes de MW sont nettement plus fréquentes que dans une population témoin (65 % contre 9-14 %) [62]. Une étude a indiqué que le diagnostic de MW était porté chez 13 % de femmes consultant pour ménorragies et bénéficiant d'une exploration de l'hémostase [62]. Des hémorragies du corps jaune lors de l'ovulation peuvent survenir dans les formes les plus graves, pouvant parfois se compliquer d'hémopéritoine [63]. Chez les patientes atteintes d'un déficit quantitatif partiel en vWF (type 1), les taux de vWF et de FVIII s'élèvent pendant la grossesse, et si les taux sont supérieurs à 50 UI/dL au moment de l'accouchement, il y a peu de risques hémorragiques. Lorsque le déficit est qualitatif (type 2), les taux de vWF s'élèvent, mais la molécule reste dysfonctionnelle, nécessitant le plus souvent de recourir à un traitement substitutif comme dans le type 3 (déficit quantitatif grave). Dans le post-partum, les taux de vWF et de FVIII s'abaissent (d'autant plus vite que la femme n'allait pas) et il peut alors survenir une hémorragie. Ceci implique une surveillance attentive dans les 7 à 10 jours qui suivent un accouchement. Dans le type 2B, une thrombopénie survient fréquemment, mais modifie peu l'attitude thérapeutique [64]. Si l'enfant est lui-même atteint de MW type 2B, une thrombopénie existe souvent dans cette période néonatale.

L'interrogatoire doit recueillir les caractéristiques de chaque symptôme hémorragique (spontanéité, localisation, taille, fréquence, durée, sévérité) et il doit également préciser les « challenges » hémorragiques auxquels le patient a été soumis (extraction dentaire, procédure invasive, accouchement, etc.), la notion d'anémie ferriprive et les antécédents transfusionnels.

IV. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic de MW est évoqué lors de l'exploration d'un syndrome hémorragique, lors d'une enquête familiale, ou de manière fortuite, à l'occasion d'un bilan préopératoire. L'interrogatoire précis sur les antécédents hémorragiques personnels et familiaux revêt une importance capitale.

L'exploration biologique d'une MW a pour but la reconnaissance de l'affection, mais aussi l'identification du type d'anomalie (quantitative ou qualitative) et du sous-type, permettant de déterminer le traitement approprié. Il existe une très grande diversité du retentissement de la MW sur les tests courants d'hémostase. Il faut savoir qu'il n'y a pas de rapport obligatoire entre l'intensité des manifestations hémorragiques et la facilité du diagnostic. Dans certains cas, le diagnostic ou l'exclusion du diagnostic de MW peut nécessiter la répétition des tests chez le patient ou des membres de sa famille.

Les examens de laboratoire peuvent être répartis en trois groupes :

- *Tests de routine*: réalisés chez tout patient ayant une symptomatologie hémorragique
- *Tests spécifiques*: permettant de porter le diagnostic de MW.
- *Tests discriminatifs*: nécessaires pour l'identification du type ou sous-type de MW.

IV.1. Tests de routine

Comme pour tout syndrome hémorragique, l'évaluation biologique initiale d'un patient pour lequel le diagnostic de la MW est évoqué, comprend au minimum un hémogramme avec numération des plaquettes, un temps de Quick et un temps de céphaline avec activateur (TCA), souvent complétés par le temps de thrombine et le dosage du fibrinogène. Cette évaluation initiale ne permet en aucun cas d'affirmer ou d'exclure le diagnostic de MW (par exemple, le TCA est ainsi normal dans de nombreux cas de MW). Elle a pour but d'orienter éventuellement vers un déficit en facteur de la coagulation ou d'objectiver une thrombopénie pouvant être impliqués dans le syndrome hémorragique. Certains centres réalisent aussi un temps de saignement (TS) ou une mesure du temps d'occlusion plaquettaire (TO) sur l'automate PFA-100, tests qui permettent une exploration globale de l'hémostase primaire. Dans la MW, la sensibilité du TS n'est que de 50 à 60 % alors que celle du TO PFA-100 est de 90 % [65]. Enfin,

la notion de groupe sanguin ABO est souvent documentée dès la première consultation car elle permet de mieux interpréter les taux plasmatiques de vWF.

IV.1.1. Temps de saignement (TS)

Le test consiste à pratiquer au niveau de l'avant-bras, sous pression constante à 40 mm de mercure, une incision de longueur et de profondeur standardisées à l'aide d'un dispositif jetable (type Simplate), sur la face antérieure de l'avant-bras, dans une zone la plus glabre possible, quelques centimètres au-dessous du pli du coude, en prenant soin de ne pas inciser un trajet veineux. Le sang est recueilli toutes les trente secondes à l'aide d'un papier filtre. La normale est de 4 à 8 min. Le temps de saignement est toujours allongé dans les formes graves. Il peut être normal ou très proche de la normale dans les formes frustes. Il est aussi normal dans le type 2N. Un temps de saignement normal ne permet pas d'exclure le diagnostic de la MW [66,3].

IV.1.2. Temps d'occlusion sur l'analyseur PFA-100 (Platelet Function Analyzer) [68-70]

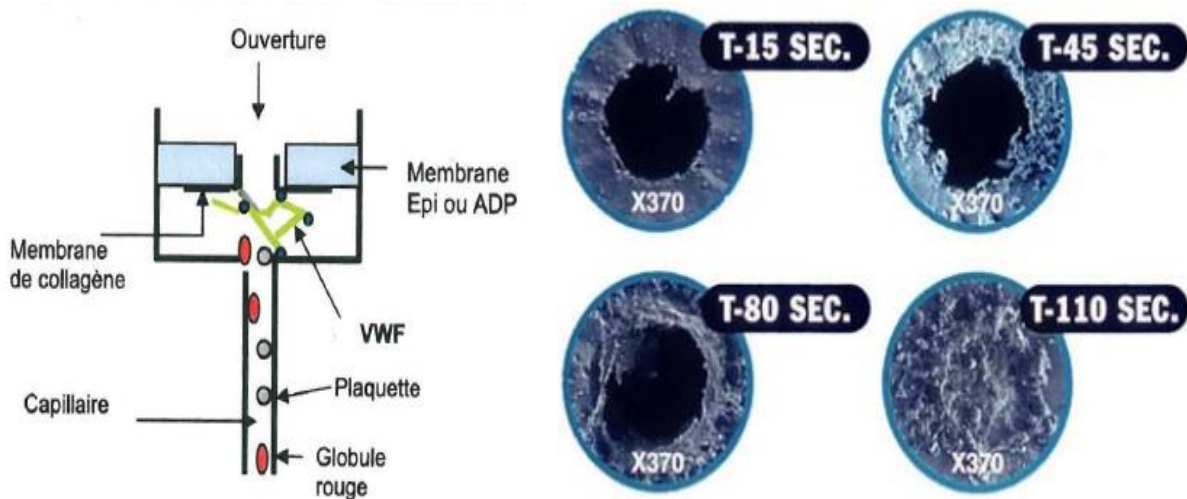
Ce test se fait sur automate PFA-100. Celle-ci permet de réaliser in vitro une exploration globale de l'hémostase primaire à partir de sang total frais citraté. Le principe consiste à simuler les conditions hémodynamiques rencontrées dans la microcirculation après une brèche vasculaire (Figure 30). Le système comprend une pompe à vide à haute résolution, contrôlée par un microprocesseur, et une cartouche test composée de:

- Un réservoir: où se fait le dépôt de l'échantillon (800µl de sang total citraté)
- Un capillaire
- Une membrane de nitrocellulose biologiquement active possédant un orifice central. Cette membrane est recouverte de collagène fibrillaire de type I (tendon de cheval) et d'un agoniste plaquettaire, soit de l'adrénaline, soit de l'Adénosine Di phosphate.

L'application d'une pression négative constante exercée par le PFA-100 aspire, par le capillaire, le sang du réservoir, qui passe ensuite par le trou de la membrane. Le capillaire reproduit la résistance hémodynamique d'une petite artériole. Les différents agonistes et les taux de cisaillement élevés induisent l'adhésion et l'agrégation des plaquettes conduisant à la formation d'un clou plaquettaire au niveau de l'orifice de la membrane. Le flux sanguin diminue

progressivement jusqu'à l'arrêt total. Le temps nécessaire à l'arrêt de l'écoulement du sang, et donc à l'occlusion, est mesuré et défini comme le "temps d'occlusion" (TO).

Le PFA-100 est très sensible pour la détection des déficits en vWF. La sensibilité est de l'ordre de 90 % pour tous les types confondus et de 100 % pour les types 2A et 3. Les variants 2N (mutation génétique dans le site de liaison du facteur de vWF au facteur VIIIc) ont par contre des TO normaux. Il existe une corrélation entre le TO et le taux de vWF. Ainsi, le TO des sujets du groupe sanguin O, qui ont des taux inférieurs en vWF aux autres groupes, est allongé.



Mécanisme de l'hémostase primaire dans la cartouche du PFA-100

Obstruction progressive du flux vue au microscope électronique pour la mesure du temps d'occlusion

Figure 30 : Mécanisme et étapes de l'obstruction progressive du flux au sein de l'analyseur PFA-100 [70]

IV.1.3. Numération plaquettaire

La numération plaquettaire normale est comprise entre 150 et 400 G/L. Elle doit être réalisée systématiquement chez tout patient ayant un syndrome hémorragique. Elle est habituellement normale à l'exception des patients présentant un sous-type particulier de la MW, le sous-type 2B où une thrombopénie peut s'exacerber, en particulier à l'occasion d'une grossesse ou d'un syndrome inflammatoire [3,67].

IV.1.4. Temps de céphaline avec activateur (TCA) [71].

Le temps de céphaline avec activateur (TCA) peut être allongé dans la MW, et son allongement est parallèle au déficit en FVIII. Dans les variants moléculaires avec anomalie qualitative du vWF, le TCA est le plus souvent normal ou peu allongé. De même, dans les anomalies quantitatives modérées, le TCA peut être normal. Ainsi, sauf dans le type 3 ou le type 2N où le taux de FVIII est constamment diminué. Un TCA dans les limites de la normale ne permet pas d'exclure le diagnostic de la MW [3].

IV.1.5. Taux de prothrombine (TP)

Le TP n'est sensible ni au déficit en FVIII, ni à celui en vWF. Il reste normal dans toutes les formes de la maladie de Willebrand. Il est utilisé dans le cadre du contrôle de la qualité préanalytique et permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de la coagulation de la voie extrinsèque in vitro.

IV.2. Tests spécifiques

IV.2.1. Mesure de l'activité fonctionnelle du vWF (Tableau IV) :

Activité cofacteur de la ristocétine (vWF:RCo)

La mesure de l'activité cofacteur de la ristocétine (vWF:RCo) reste la méthode de référence pour évaluer l'activité fonctionnelle du vWF. Ce test évalue la capacité du vWF (au sein d'un PPP) à interagir avec des plaquettes normales en conditions statiques. L'absence de forces de cisaillement, essentielle à l'interaction vWF-GpIb α in vivo, est contournée in vitro par l'utilisation de ristocétine, un composé (anciennement utilisé comme antibiotique) modifiant la charge électro-statique du vWF, induisant une agglutination vWF-dépendante des plaquettes [1]. L'activité cofacteur de la ristocétine du vWF (vWF :RCo) a d'abord été évaluée par l'étude de l'agrégation du plasma riche en plaquettes du patient en présence de ristocétine ; mais ce test, peu sensible, ne permettait pas une évaluation quantitative. Un test quantitatif a été développé en utilisant des plaquettes d'un sujet normal fixées par de la formaldéhyde ou de la paraformaldéhyde et des dilutions en série d'un *pool* de plasmas normaux ou du plasma du patient [74].

Les taux de vWF:RCo sont diminués dans tous les types de MW, et ce dosage est donc le critère de choix pour le diagnostic. Ces taux sont indétectables dans les formes graves, parallèles au déficit en vWF:Ag dans les anomalies quantitatives, et notablement plus abaissés que les taux de vWF:Ag dans les anomalies qualitatives.

Cependant, l'existence de polymorphismes situés sur les sites de liaison de la ristocétine du domaine A1 du vWF, constitue une limite intrinsèque à l'ensemble des tests basés sur l'usage de la ristocétine. Ces polymorphismes, identifiés chez des sujets d'origine afro-américaine, peuvent induire un taux artificiellement bas de vWF:RCo en dépit d'une capacité de liaison normale du vWF à la GpIb α [75].

Autres tests dits « Willebrand activité » évaluant la liaison vWF-GpIb α (VWF:Act)

Il est aussi possible d'évaluer biologiquement l'interaction vWF-GpIb α en l'absence de ristocétine et de plaquettes. Le « vWF:Act » (HemosIL vWF Activity®, IL) est une technique immunoturbidimétrique utilisant des billes de latex recouvertes d'un anticorps monoclonal anti-vWF reconnaissant un épitope fonctionnel pour la liaison à la GpIb α (domaine A1). Ce test s'avère performant dans le cadre du dépistage de la MW (CV < 10 %) mais il ne permet cependant pas une distinction fiable entre MW type 1 et MW type 2 lors du typage, qui nécessite alors la réalisation d'un autre test fonctionnel [76].

Le « vWF:Ac » (Innovance® vWF:Ac, Siemens) est une technique immunoturbidimétrique automatisée utilisant une protéine recombinante GpIb α mutée caractérisée par une hyper-affinité pour le vWF (induction par mutagenèse dirigée de 2 mutations pseudo-MW à l'origine d'« un gain de fonction » pour le vWF). Ce dernier test semble intéressant à la fois pour le dépistage et le typage de la MW avec une bonne discrimination entre MW type 1 et type 3 ainsi qu'entre MW type 1 et type 2 [77].

Tableau IV : Méthodes de dosage de l'activité VWF [77].

		vWF:RCo				vWF:Act		
		Sur lame	Sur agrégomètre	Sur automate	LIA	Chimiluminescence HemosIL Acustar vWF:RCo IL	LIA HemosIL vWF Activity, IL	LIA Innovance vWF Ac, Siemens
Réactifs		Plaquettes fixées			rGpIba	Ac monoclonaux	Ac monoclonaux	rGpIba
Sensibilité		2 UI/dl	10 UI/dl	3 à 10 UI/dl	3,5 UI/dl	< 1 UI/dl	6-8 U/dl	< 4 U/dl
CV interséries			15 à 20 %	< 15 %	< 5 %	< 10 %	< 10 %	< 5 % (fabricant)
Dosage unitaire		Oui	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui
Distinction MW	1&3	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Non	Oui
	1&2	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui

IV.2.2. Dosage antigénique du facteur Von Willebrand (vWF : Ag)

Le dosage antigénique permet de quantifier le taux de vWF, sans tenir compte de l'activité fonctionnelle de la protéine. La concentration plasmatique du vWF peut être mesurée sur PPP par des méthodes immunologiques variées, grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiques :

a. Technique immunoenzymatique :

- ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) : qui est pratiquement la seule technique dont la limite de détection (inférieure à 1 UI/dl) permette de diagnostiquer un déficit total. C'est une technique longue, nécessitant une nouvelle calibration pour chaque série et des incubations de plusieurs heures.

- ELFA (*enzyme-linked immunosorbent assay*)

b. Immunoradiométrique : IRMA,

c. Agglutination de microparticules de latex : LIATEST

d. Immunoélectrophorèse (méthode de Laurell) : moins utilisée actuellement.

Les deux techniques d'ELISA et IRMA sont plus sensibles et doivent être préférées chez les patients suspects de variants moléculaires. Elles ont évolué récemment vers des dosages rapides et unitaires [72].

Les taux de vWF:Ag varient en fonction du groupe sanguin ABO chez les sujets normaux. Les sujets de groupes sanguins A, B et AB ont des taux plasmatiques de vWF:Ag sensiblement plus élevés que les sujets de groupe O [73].

Le taux de vVWF:Ag peut être pratiquement normal pour certains variants de type 2. Ceci justifie systématiquement, en parallèle du dosage du vWF:Ag, une mesure de l'activité fonctionnelle du vWF plasmatique.

IV.2.3. Dosage de l'activité coagulante du facteur VIII (FVIIIc)

Le taux de FVIII (normal : 50 à 140 UI/dl) est mesuré sur plasma pauvre en plaquettes (PPP) le plus souvent par méthode chromométrique en 1 temps (FVIIIc), voire par méthode chromogénique. Un délai de moins de 2 h est recommandé en cas de dosage sur PPP frais en raison de la thermolabilité du FVIII à température ambiante. Un déficit isolé en FVIII et/ou un ratio $FVIII/vWF:Ag < 0,5-0,6$ orientent soit vers une MW de type 2N soit vers une hémophilie A modérée ou mineure (ou un statut de conductrice d'hémophilie A).

Le diagnostic différentiel nécessite l'étude de la capacité de liaison du vWF au FVIII (vWF:FVIII-B). Il existe des kits commerciaux permettant ce dosage mais il est préférable d'adresser cette analyse à des laboratoires disposant de l'expérience requise. En dehors des types 3 et 2N, l'intensité du déficit secondaire en facteur VIII varie selon l'intensité du déficit en vWF:Ag.

Le taux de FVIII peut être peu abaissé voire presque normal dans la MW de type 1 ou de type 2 (hors 2N). Un taux de FVIII normal a donc une mauvaise valeur prédictive négative pour le diagnostic de ces variants. Ceci exclut également le TCA comme test de dépistage d'une MW.

IV.2.4. Calcul des rapports vWF: RCo/vWF: Ag et FVIII/vWF: Ag

Il permet classiquement de distinguer une anomalie qualitative d'une anomalie quantitative.

Un rapport vWF RCo/vWF Ag abaissé est en faveur d'une anomalie d'interaction du vWF avec les plaquettes, associée ou non à l'absence de multimères de haut poids moléculaire. Un rapport

FVIII/vWF Ag abaissé ($<0,5$) peut être en relation avec une anomalie d'interaction du vWF avec le FVIII. Ce calcul peut orienter vers le type de la MW :

- Le rapport vWF RCo /vWF Ag est diminué ($< 0,7$) dans les déficits qualitatifs avec anomalie de l'interaction vWF-plaquettes (sous-type 2A, 2M et 2B). Il est voisin de 1 dans les anomalies quantitatives (type 1 ou type 3) et en cas d'anomalie qualitative de type 2N.
- Le rapport FVIII/vWF Ag est supérieur ou égal à 1 dans tous les types de la maladie, sauf le type 2N où il est inférieur à 0,7.

IV.3. Tests discriminatifs et spécialisés

Ces tests sont nécessaires pour l'identification du type ou sous-type de MW.

IV.3.1. Agrégation plaquettaire induite par la ristocétine (RIPA)

L'agrégation plaquettaire induite par la ristocétine (*ristocetin-induced platelet aggregation* [RIPA]) dépend à la fois de la concentration de vWF et de l'affinité du vWF pour la GPIIb. La ristocétine (1 à 1,5 mg/mL) induit l'agrégation plaquettaire d'un plasma riche en plaquettes chez les sujets normaux. Chez les patients atteints de MW grave (type 3), la RIPA est effondrée voire nulle à toutes les concentrations, alors qu'elle peut être normale ou subnormale dans les anomalies quantitatives modérées (type 1) [78]. Chez les variants, où l'affinité du vWF pour la GPIIb est diminuée (type 2A, 2M), la RIPA est très diminuée à ces concentrations. Chez les variants de MW, où l'interaction du vWF avec la GPIIb est au contraire anormalement augmentée (type 2B), le vWF peut se lier à la GPIIb et initier l'agrégation plaquettaire à une faible concentration de ristocétine (0,2 à 0,6 mg/mL) qui ne peut induire l'agrégation d'un plasma riche en plaquettes de sujets normaux (figure 31).

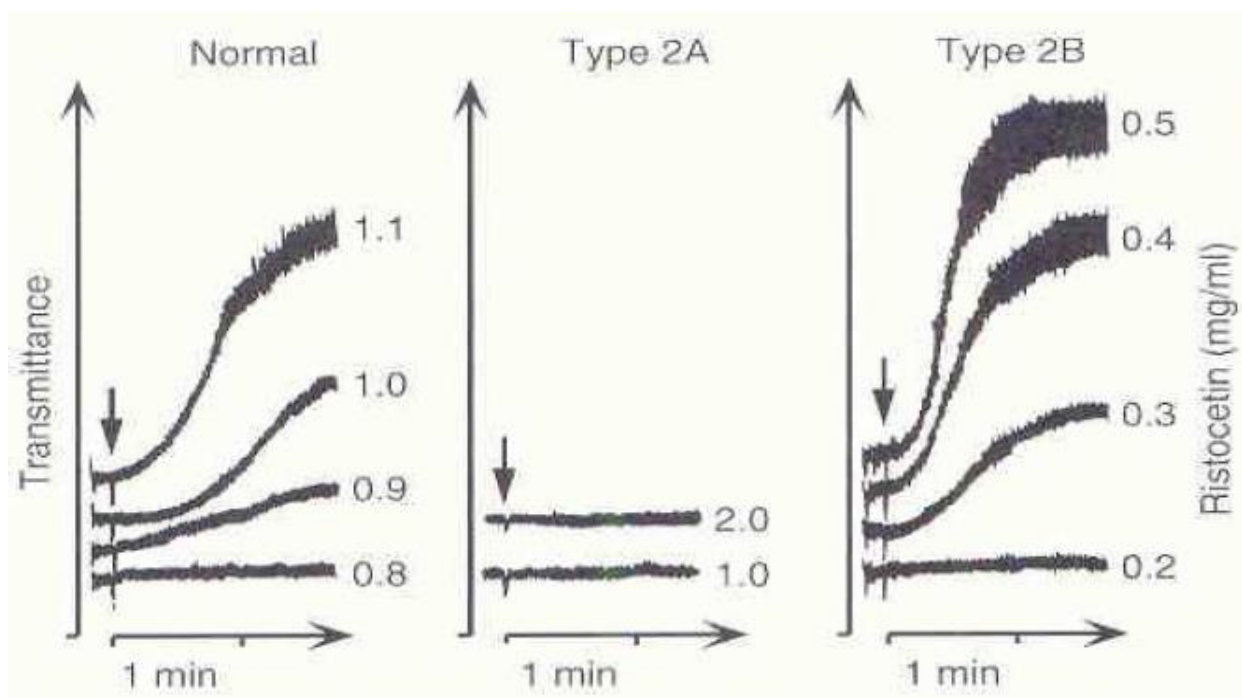


Figure 31 : Agrégation plaquettaire à différentes concentrations de la ristocétine [78].

IV.3.2. Etude de la distribution des multimères du facteur Von Willebrand

Elle est réalisée par électrophorèse du plasma dans un gel d'agarose contenant un agent dissociant (dodecyl sulfate de sodium), afin de séparer les multimères qui sont ensuite révélés par un anticorps spécifique marqué [79,80].

À une faible concentration d'agarose (1 à 1,5 %), chaque multimère migre sous forme d'une bande : la première correspondant à un dimère de deux sous-unités, la bande suivante à quatre sous-unités et ainsi de suite (figure 32).

- La distribution des multimères est normale dans le type 1 (tous les multimères sont présents mais en quantité réduite) et dans le type 2M.
- Dans la plupart des variants moléculaires, la distribution des multimères est anormale, avec absence des formes de haut PM ; dans le type 2A, il y a une perte des multimères de haut PM intermédiaire et plus élevé ; dans le type 2B il y a seulement une absence des multimères de haut PM.
- Dans le type 3, les multimères ne sont pas détectables.

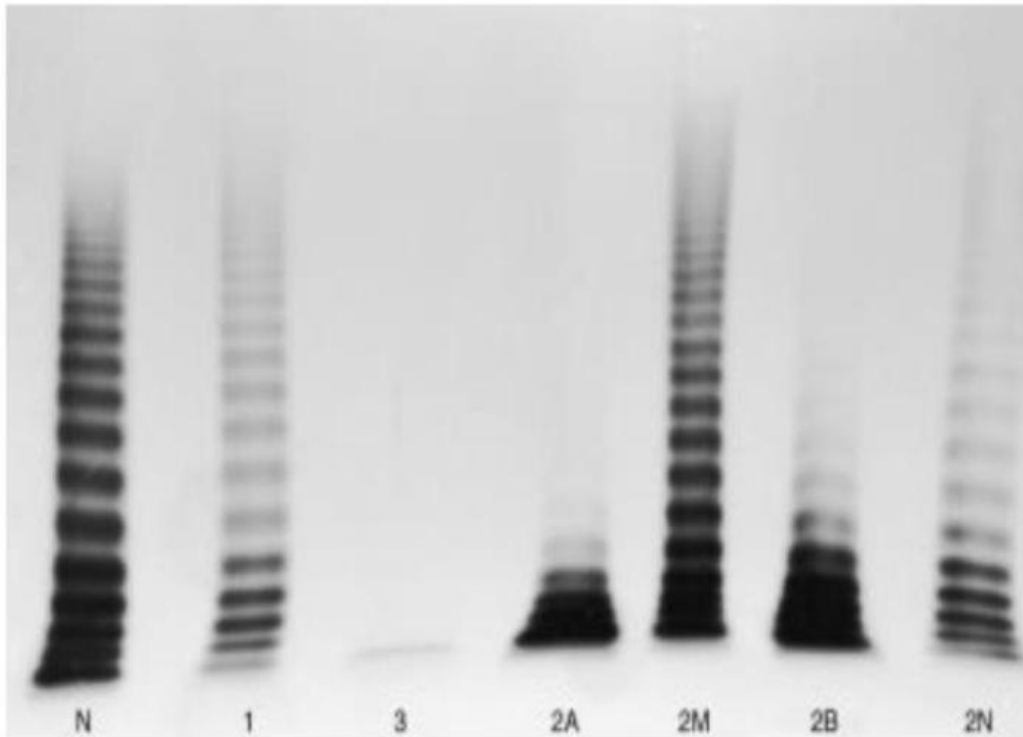


Figure 32 : Distribution des multimères du vWF dans le plasma [81].

- Ligne 1 : plasma normal.
- Ligne 2 : plasma de MW type 1.
- Ligne 3 : plasma de MW type 3.
- Ligne 4 : plasma de MW type 2A.
- Ligne 5 : plasma de MW type 2M.
- Ligne 6 : plasma de MW type 2B.
- Ligne 7 : plasma de MW type 2N (double hétérozygote 2N/1).

Le recours à des méthodes d'électrophorèse de très haute résolution avec une concentration plus élevée d'agarose (2 à 3 %), où chaque multimère migre sous forme de plusieurs bandes, peut permettre d'individualiser des variants plus rares (Figure 33).

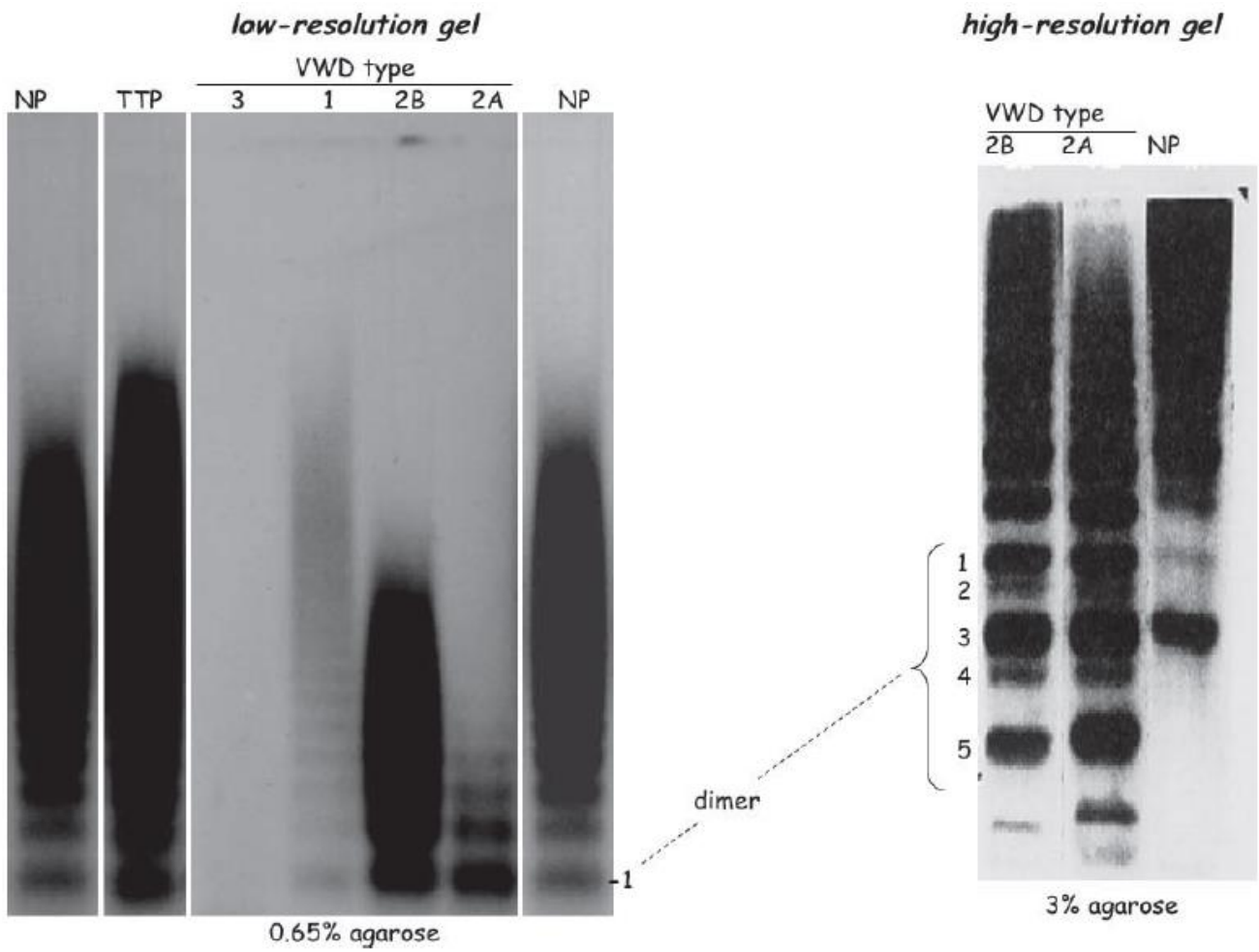


Figure 33 : Etude de la distribution des multimères du vWF selon la méthode de faible résolution et haute résolution [82].

IV.3.3. Facteur Von Willebrand plaquettaire

Les taux de vWF sont parfois normaux dans les plaquettes, alors qu'il existe un déficit dans le plasma. Ceci permet de distinguer différents groupes parmi les patients de type 1. Le vWF:Ag et le vWF:RCo peuvent être dosés dans les plaquettes [83], et l'étude de la répartition des multimères du vWF plaquettaire peut être réalisée.

IV.3.4. Étude de la liaison du facteur Von Willebrand aux plaquettes

La liaison du vWF aux plaquettes, induite par la ristocétine, peut permettre de discriminer les patients qui ont une interaction augmentée avec la GPIb (type 2B) de ceux qui ont une interaction diminuée (type 2A ou 2M). Chez les patients qui ont une interaction augmentée, cette étude permet surtout de localiser le niveau de l'anomalie : vVWF et non GPIb [84]. La liaison du vWF aux plaquettes peut aussi être induite par un venin de serpent, la botrocétine, par un mécanisme différent de celui de la ristocétine [85]. Ainsi, la liaison du vWF aux plaquettes en présence de botrocétine est normale dans le type 2M, alors qu'elle est anormale dans le type 2A.

IV.3.5. Étude de la liaison du facteur Von Willebrand au collagène

Plusieurs essais ont été développés pour mesurer la liaison du vWF plasmatique au collagène, et du fait qu'ils sont sensibles à la présence de multimères de haut poids moléculaire, ces essais ont été proposés comme remplacements du vWF: RCo.

La plupart des tests de liaison au collagène utilisent collagènes Type 1 et 3, mais récemment, l'utilisation de collagène de type 6 a permis l'identification des défauts potentiels de liaison au vWF non identifiées par d'autres types de collagène [86].

La liaison du vWF au collagène peut être étudiée par des tests Elisa qui peuvent mesurer cette fonction du vWF (vWF:CB). Cette liaison est très dépendante de la multimérisation du vWF. L'étude du rapport vWF:CB/vWF:Ag peut, comme le rapport vWF:RCo/vWF:Ag, distinguer le type 1 (où il est normal) du type 2. Ce rapport a également l'avantage de différencier certains types 2 : ainsi, il est diminué dans le type 2A, plus ou moins diminué dans le type 2B, et normal dans le type 2M (où tous les multimères sont présents).

IV.3.6. Etude de la liaison du facteur Von Willebrand au facteur VIII (vWF:FVIII)

L'étude cette liaison mesure la capacité du vWF des patients à se lier in vitro au FVIII recombinant par une technique ELISA. Ce dosage permet l'identification des patients avec des défauts dans la liaison de FVIII tel que ceux observés dans le type 2N [87].

Seul ce test peut distinguer une MW type 2N avec défaut d'interaction du vVWF avec le facteur VIII d'une hémophilie A modérée ou mineure avec interaction normale.

IV.3.7. Analyse génétique

Les tests génétiques de MW ne sont pas indiqués sauf pour des cas spécifiques dont les résultats du test feraient une différence dans la gestion thérapeutique du patient. Il y a plusieurs complications et facteurs qui rendent difficile ces tests génétiques.

vWF est un très grand gène qui couvre 178 kb et contient 52 exons. La présence d'un pseudogène partielle hautement homologue dans le chromosome de 22 rend le séquençage et son interprétation particulièrement difficile. En outre, le gène est également hautement polymorphe avec >300 polymorphismes nucléotidiques simples signalés. Récemment, la présence de variants communs qui affectent l'essai vWF: RCo ont été décrits, mais il semble ils ne font pas augmenter le risque de saignement. Par conséquent, les tests génétiques devraient être limités à des situations très spécifiques [88-89].

IV.3.8. Dosage du propeptide du vWF (vWFpp)

Plusieurs laboratoires offrent la quantification de propeptide du vWF (vWFpp). Parce que le propeptide de vWF est synthétisé et sécrété sur une base d'équivalence de l'ordre de 1/1 avec le monomère de vWF, la quantification de cette protéine est utile dans la caractérisation des situations cliniques dans lesquelles le vWF montre une clairance accélérée (parce que la clairance pathologique est un mécanisme qui affecte seulement vWF: Ag et non vWFpp). En utilisant le rapport vWFpp / vWF: Ag, il est possible d'identifier les personnes avec clairance vWF nettement élevée [90].

IV.3.9. Autres :

- Recherche d'anticorps anti-vWF
- Etude de la liaison du vWF aux plaquettes

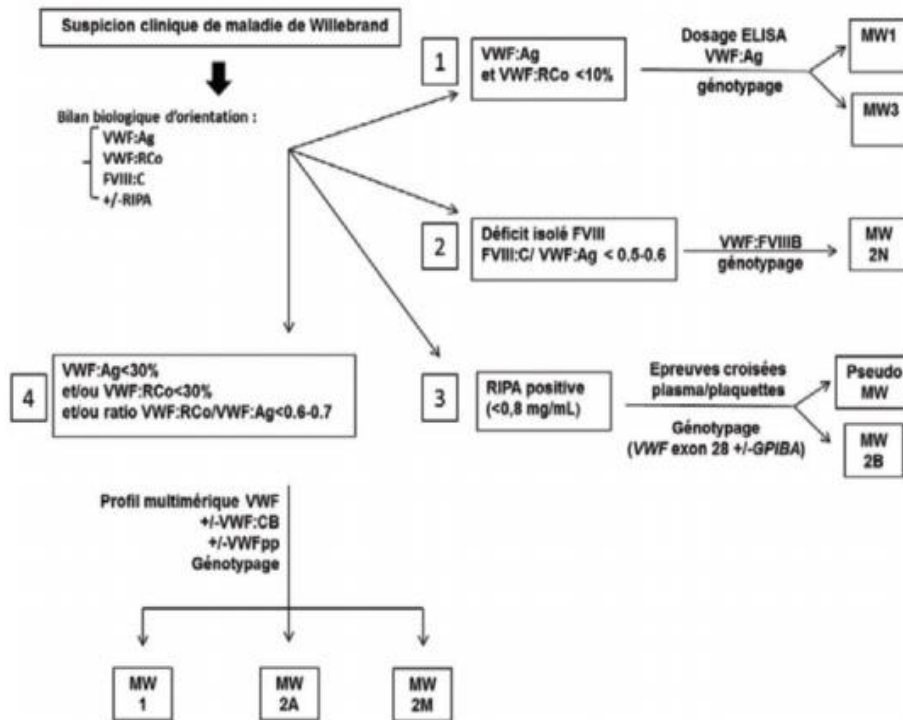


Figure 34 : Organisation du dépistage et du typage de la MV constitutionnelle [1].

V. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

V.1. Sujets normaux de groupe sanguin O

Les sujets de groupe sanguin O ont des taux de vWF plus faibles que dans la population générale. Il est donc important pour interpréter les résultats des tests biologiques de prendre en compte le groupe sanguin de la personne.

V.2. Syndrome de Willebrand acquis

Le syndrome de Willebrand acquis est un syndrome hémorragique comportant des anomalies biologiques de la maladie de Willebrand. Il est rare et survient en général après 50 ans, chez un sujet n'ayant pas d'antécédents personnels ou familiaux de saignements. On le retrouve souvent dans un contexte clinique particulier : syndrome lympho- ou myéloprolifératif, gammapathie monoclonale, cancer, maladie auto-immune, etc.

Les symptômes de la maladie de Willebrand acquise ne sont pas spécifiques ; comme dans la forme constitutionnelle, ce sont des saignements cutanéomuqueux et/ou postopératoires, de sévérité variable [91].

La diminution du taux du vWF résulte de trois mécanismes principaux :

- L'apparition d'anticorps anti-vWF : c'est le plus souvent observée dans le contexte d'un syndrome lymphoprolifératif de type myélome multiple, ou d'un lupus érythémateux disséminé. Le complexe formé entre l'anticorps (Ac) et le facteur Willebrand est rapidement capté par le système réticulo-endothélial, entraînant la baisse du taux du facteur Willebrand plasmatique.
- L'adsorption du facteur Willebrand sur les cellules tumorales : Au cours de certaines néoplasies ou maladies lymphoprolifératives (myélome, leucémie à tricholeucocytes), les cellules tumorales expriment à leur surface un complexe GpIb ou GpIIb-IIIa-like aberrant, provoquant l'adsorption généralement sélective des multimères de haut poids moléculaire du vWF
- Une dégradation protéolytique : c'est au cours de certains syndromes myéloprolifératifs, ou en cas de traitement par certains médicaments comme la ciprofloxacine, des enzymes capables de cliver les sous-unités du facteur Willebrand seraient sécrétées.

La distinction entre maladie de Willebrand constitutionnelle et syndrome de Willebrand acquis repose donc principalement sur l'âge (tardif) d'apparition des premiers symptômes et sur l'absence d'antécédents hémorragiques personnels ou familiaux.

Quelques examens spécifiques peuvent être envisagés pour aider au diagnostic de la forme acquise. Ainsi un test fait sur le mélange plasma du malade et plasma témoin peut permettre de mettre en évidence un effet inhibiteur dirigé contre le vWF:Rco (absence de correction du test sur le mélange). Et dosage du propeptide du facteur Willebrand, qui aide au diagnostic différentiel : son taux est diminué dans les formes constitutionnelles et normal, voire augmenté, dans les formes acquises.

V.3. Hémophilie A

La distinction entre déficit en FVIII (hémophilie A) et MW est généralement facile, sauf pour les variants 2N.

V.4. Pseudo-maladie de Willebrand

La distinction entre MW de type 2B et pseudo-MW est très difficile et réservée à des laboratoires hautement spécialisés. La pseudo-MW est une thrombopathie caractérisée par une augmentation de l'affinité de la GPIb plaquettaire pour le vWF [92]. Dans ce syndrome, les multimères de haut PM se lient à la GPIb anormale, ce qui induit leur disparition du plasma et une thrombopénie modérée comme dans le type 2B de MW. Il existe aussi une augmentation de la sensibilité du plasma riche en plaquettes à la ristocétine. L'étude spécifique de la liaison du vWF du plasma du patient à des plaquettes normales permet de différencier ces patients de ceux avec MW de type 2B. Deux mutations au niveau de la sous unité de la GPIb ont été décrites chez les patients atteints de pseudo-MW [93]. La distinction est naturellement essentielle du point de vue thérapeutique, puisque la dDAVP et les concentrés en facteurs Von Willebrand sont contre-indiqués dans la pseudo-maladie de Willebrand car ils peuvent majorer la thrombopénie. Ces patients doivent être traités à l'aide de concentrés de plaquettes.

VI. ATTITUDES THERAPEUTIQUES

Il existe actuellement deux possibilités thérapeutiques majeures : la desmopressine ou dDAVP (1-déamino-8-D-arginine vasopressine) d'une part et les concentrés plasmatiques de facteur Willebrand, plus ou moins riches en facteur VIII, d'autre part.

Le choix dépend du type et de la gravité de la maladie, de la réponse à la dDAVP et enfin de la situation clinique c'est-à-dire de l'importance du saignement et du temps pendant lequel il sera nécessaire de corriger l'anomalie de l'hémostase. D'autres traitements, exercent une action indépendamment de la concentration en vWF ou FVIII (antifibrinolytiques, oestroprogestatifs, hémostatiques d'appoint) et peuvent être employés seuls ou en association avec les traitements spécifiques.

VI.1. La Desmopressine

La desmopressine ou DDAVP (*1-desamino-8-d-arginine vasopressin*) est un analogue synthétique de l'hormone antidiurétique « la vasopressine », de formule chimique $C_{46}H_{64}O_{12}S_2$ et d'environ 1069 de poids moléculaire (agoniste des récepteurs V2). Ce peptide est obtenu par désamination de l'homocystéine en position 1 de l'hormone naturelle ce qui entraîne une augmentation de l'effet antidiurétique et substitution de la L-arginine par la D-arginine en position 8 ce qui diminue l'effet vasopressif de la molécule.

Il induit la sécrétion du vWF endogène stocké dans les cellules endothéliales et parallèlement une augmentation du taux de FVIII. Son mécanisme d'action n'est pas encore parfaitement élucidé.

La desmopressine commercialisée sous le nom de Minirint pour la voie intraveineuse et d'Octimt pour la voie intranasale.

La dDAVP est efficace chez presque tous les sujets de type 1 pour le traitement des épisodes hémorragiques ou pour leur prévention en cas de certains actes chirurgicaux. Une étude de la réponse doit être réalisée chez chaque patient lors du diagnostic ou au moins 1 semaine avant chirurgie afin de savoir si la correction de l'hémostase est suffisante.

Chez un sujet «répondeur», après injection intraveineuse à la posologie de 0,3 µg/kg, la concentration de vWF augmente de deux à cinq fois et celle de FVIII de deux à sept fois. Le temps de saignement est raccourci et peut même se normaliser. La demi-vie du vWF libéré est

d'environ 6 à 8 heures et celle du FVIII de 4 à 5 heures. L'injection peut être répétée toutes les 12 à 24 heures en fonction de la situation clinique.

Cependant, la réponse est de moins en moins efficace car une tachyphylaxie survient. C'est également en cas d'injections répétées, particulièrement chez les jeunes enfants, qu'il est souhaitable de placer les patients en restriction hydrique et de contrôler la natrémie, car la dDAVP peut provoquer une hyponatrémie (déséquilibre de l'eau au sel, qui peut provoquer des convulsions et le coma). Elle peut aussi entraîner une vasodilatation modérée qui ne se traduit souvent que par un *flush* facial, une tachycardie et des céphalées. Bien que quelques cas d'accidents thromboemboliques aient été rapportés après injection intraveineuse de dDAVP, il n'existe pas de relation bien établie entre dDAVP et risque thrombotique. Cependant, il est recommandé de l'utiliser avec prudence chez les patients âgés ou porteurs d'une pathologie cardiovasculaire. La dDAVP peut aussi être utilisée par voie intranasale en spray (Octimot) à la posologie de 300 µg chez l'adulte de plus de 50 kg et 150 µg chez l'enfant ou l'adulte de moins de 50 kg. Le pic de la réponse survient après 60 minutes. Cette forme est surtout utilisée pour le traitement à domicile des saignements menstruels ou de traumatismes mineurs.

Du fait de son absence de risque de transmission virale et de son faible coût, la dDAVP est le traitement de choix des patients de type 1 : environ 90 % des patients sont bons répondeurs. La dDAVP est tout à fait inefficace dans le type 3.

Dans le type 2, la réponse est variable: elle est rarement efficace dans le type 2A ; son utilisation est controversée dans le type 2B du fait du risque d'agrégation plaquettaire et de thrombopénie ; dans le type 2N, les taux de FVIII augmentent après dDAVP, mais la réponse est brève [3-94].

VI.2. Les concentrés plasmatiques de facteur Willebrand

Avant la dDAVP, le plasma puis les cryoprécipités représentaient la seule possibilité thérapeutique. Du fait de la difficulté de soumettre le cryoprécipité à un procédé d'inactivation virale, il a été remplacé par des concentrés plus purifiés de vWF, plus ou moins riches en FVIII. Ces concentrés sont traités par solvant-détergent, ce qui élimine le risque de transmission de virus à enveloppe lipidique (virus de l'immunodéficience humaine [VIH], virus des hépatites B et C), mais laisse persister un risque de transmission de virus nus (hépatite A, parvovirus...).

Il est donc recommandé de vacciner ces patients contre l'hépatite A, mais aussi contre l'hépatite B puisqu'ils sont aussi exposés à recevoir des produits sanguins labiles.

Les concentrés plasmatiques de vWF sont efficaces dans tous les types de MW, mais du fait de risques hypothétiques résiduels (transmission de prions...) et de leur coût élevé, ils doivent être réservés aux patients qui ne peuvent pas bénéficier d'un traitement par la dDAVP en raison d'une inefficacité, d'une contre-indication ou d'une tachyphylaxie. Il existe actuellement deux types de concentrés :

- l'Innobrandt (LFB) qui contient en moyenne moitié moins de FVIII que de vWF,
- Facteur Willebrand-LFBt qui ne contient pratiquement pas de FVIII.

Ce dernier type de concentré va bénéficier prochainement de deux étapes supplémentaires de sécurisation : une nanofiltration 35 nm et une étape de chauffage à sec.

Si le patient présente un déficit en FVIII et doit être traité en urgence, il faut utiliser l'Innobrandt. En cas de chirurgie programmée où le traitement peut être commencé 12 à 24 heures avant, le vWF transfusé permet la stabilisation et la protection du FVIII endogène synthétisé par le patient, et le traitement peut donc faire appel au concentré de vWF dépourvu de FVIII. On admet que l'injection de 1 UI/kg de vWF ou de FVIII augmente en moyenne le taux plasmatique de 2 %.

Pour une chirurgie majeure, les taux de vWF (vWF:RCo) et de FVIII préopératoires doivent être voisins de 80 à 100 UI/dL, puis maintenus supérieurs à 40-50 UI/dL jusqu'à cicatrisation grâce à une injection toutes les 12 à 24 heures.

Classiquement, la dose préopératoire chez un patient de type 3 est de 60 UI/kg de vWF:RCo et de FVIII. Les dosages de vWF:RCo et de FVIII doivent être contrôlés afin d'adapter la posologie. L'allongement du temps de saignement (mesuré par Ivy-incision) est difficile à corriger chez les patients de type 3. C'est seulement en cas de saignement muqueux, lorsque sa normalisation est importante, que sa mesure est utile, pouvant faire décider le rapprochement des injections. En cas d'échec et d'impossibilité de maîtriser un syndrome hémorragique chez un patient de type 3, il a été proposé d'associer aux concentrés plasmatiques l'injection de dDAVP ou de concentrés plaquettaires.

Chez quelques patients de type 3, il a été décrit, après transfusion, le développement d'alloanticorps anti-vWF qui compliquent considérablement le traitement. Cependant, comme

ces anticorps ne sont dirigés que contre le vWF, il reste parfois possible de corriger le déficit en FVIII avec des concentrés de FVIII entièrement dépourvus de vWF pour éviter les réactions anaphylactiques. Cependant, en l'absence de vWF, la demi-vie du FVIII est très brève, nécessitant le recours à une perfusion continue. Il peut aussi être proposé à ces patients des échanges plasmatiques, une immunoadsorption sur colonne de protéine A, ou encore des injections de NovoSevent (Facteur VIIa recombinant, Novo Nordisk) [95-96].

VI.3. Traitements adjuvants

VI.3.1. Antifibrinolytiques

Les médicaments antifibrinolytiques : acide aminocaproïque et l'acide tranexamique sont des agents qui inhibent la conversion de plasminogène en plasmine, en inhibant la fibrinolyse et en contribuant ainsi à la régularisation des caillots qui se sont formés [97].

Les médicaments peuvent être utilisés par voies orale ou intraveineuse, il est utilisé en cas d'hémorragie de la sphère ORL, d'hémorragies digestives ainsi que chez les patientes qui présentent des ménorragies.

VI.3.2. Les œstrogènes

Les œstrogènes ou les contraceptifs oraux ont été utilisés pour le traitement empirique de la ménorragie. En plus de leurs effets sur l'utérus et des ovaires, les œstrogènes ont tendance à augmenter les niveaux plasmatiques de vWF.

Chez les patients on note souvent une normalisation de leurs niveaux de FVIII, de vWF: Ag et vWF:RCo au cours de la grossesse. Le mécanisme d'action des œstrogènes peut être en partie lié à l'accroissement de la production de vWF dans le cadre d'un effet direct sur les cellules endothéliales [98].

VI.3.3. Agents et circonstances à éviter

Activités avec un risque élevé de traumatismes, notamment blessure à la tête doivent être évités. Les médicaments ayant des effets sur la fonction plaquettaire (aspirine (acide acétylsalicylique), le clopidogrel ou des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens, AINS) devraient être évités car ils peuvent aggraver les symptômes de saignement. Mâles nourrissons ne devraient être circoncis après consultation d'un spécialiste de l'hémostase pédiatrique.

VII. DISCUSSION DE NOS RESULTATS

Les modifications hormonales de la grossesse induisent des changements importants de l'équilibre de l'hémostase, en particulier une hypercoagulabilité secondaire à un état inflammatoire. Cette hypercoagulabilité est liée à une augmentation du taux des facteurs de coagulation procoagulants, à une diminution de l'activité fibrinolytique et des inhibiteurs physiologiques de la coagulation [100].

Notre étude a porté sur 390 femmes enceintes, l'âge moyen était de $28,44 \pm 6,6$ ans avec des extrêmes de 16 et 45ans, dont 58% représentait par la classe jeune âgée entre 20 et 30 ans.

VII.1. Répartition des patients selon les tests d'hémostase

La plupart des facteurs d'hémostase augmentent pendant la grossesse, particulièrement le fibrinogène, le facteur VIII et le facteur de Willebrand (vWF).

VII.1.1. TP et TCA

Sur les 390 femmes, le TP était normal (70 à 100%) chez la quasi-totalité soit 99,75% sauf chez une seule patiente avec un TP à 55,9%.

Pour le rapport TCA patient / TCA témoin, 373 patientes avaient un ratio normal ($\leq 1,2$), soit 95,64% contre 17 patientes qui se sont révélées avec un ratio anormal soit 4,36%. Ces résultats concordent avec la littérature, l'état de la grossesse représente un terrain d'hypercoagulabilité connaissant l'augmentation de certains facteurs de coagulation. Cette augmentation est d'ailleurs responsable d'un net raccourcissement du TQ (TP) et du TCA chez toutes les femmes en fin de grossesse [101].

VII.1.2. Fibrinogène

Les taux de fibrinogène chez nos patientes n'étaient pas diminués chez aucune de nos patientes, par contre les taux normaux (2 à 4 g/l) étaient trouvés chez 38,97% des cas et 61,03% se sont révélés avec des taux supérieurs aux valeurs usuelles. Donc on note une nette élévation des taux de fibrinogène en cette situation de grossesse.

VII.1.3. FVIII

Nos patients étaient répartis selon les taux du facteur VIII comme suit :

- a- 2 patientes qui avaient un taux bas, soit 0,51% (<50%), une avec un taux de l'ordre de 3,4% diagnostiquée au laboratoire d'hématologie durant la période de l'étude, il s'agit d'une malade de Willebrand type 3 dont le taux du vWF était à 3%. L'autre patiente s'est révélée avec un taux de FVIII à 38,1%.
- b- 29 patients inclus dans les normes (50 à 145%) soit 7,44%, et 359 cas au-delà du seuil normal (>145%), soit 92,05% de la totalité de l'échantillon étudié pour attendre un maximum de 599%. Ces taux concordent avec des études réalisées sur l'hémostase et la grossesse (Tableau V) [100].

VII.1.4. vWF

Les valeurs de vWF enregistrées pour nos patientes étaient diminuées pour 3 patientes soit 0,77% (<50%) : une patiente avec maladie de Willebrand type 3 (activité vWF à 3%), une autre patiente avec activité vWF à 43% et la troisième patiente avec activité vWF à 33%.

Les taux en vWF étaient compris dans les normes (50-160%) pour 70 patientes soit 17,95%, tandis que ces valeurs se sont révélés élevés chez 317 patientes soit 81,28% (>160%), exprimant l'état du terrain étudié. Tous ces résultats concordent avec la littérature (Tableau V).

Les taux de fibrinogène, FVIII et vWF augmentent progressivement au cours de la grossesse avec un taux de multiplication par deux pour le fibrinogène et le FVIII et par trois pour le vWF [102]. Le taux de vWF s'élève précocement à partir de 10-11 semaines d'aménorrhée (SA), avec des taux à 34-35 SA reflétant ceux du terme. La protéine de clivage du vWF, l'ADAMTS13, de découverte récente, a été peu étudiée pendant la grossesse ; une revue récente [103] montre une diminution progressive de son activité, maximale à 36 SA et dans le post-partum immédiat qui, associée à une augmentation du vWF, constitue une augmentation du risque thrombotique et des pathologies obstétricales.

Tableau V: Paramètres de l'hémostase augmentant ou restant stables pendant la grossesse et le post-partum (moyennes et valeurs extrêmes) [100]

Paramètres	Semaines de grossesse			Post-partum		
	11-15	26-30	36-40	1 semaine	8 semaines	> 12 semaines
Fibrinogène (g/l)	3,6 (2,6-5,2)	3,8 (2,6-5,4)	4,4 (2,9-6,2)	4,6	2,6	2,7
Facteur VIII (%)	122 (53-833)	162 (67-528)	212 (75-570)	213	86	109
Facteur de Willebrand (%)	133 (56-313)	210 (80-492)	376 (133-1 064)	351	93	78
Facteur VII (%)	111 (60-206)	158 (75-332)	171 (87-336)	104	94	91
Facteur X (%)	103 (62-69)	119 (74-203)	127 (72-208)	101	91	92
Facteur V (%)	93 (46-188)	82 (34-195)	85 (39-184)	98	80	84
Facteur II (%)	125 (70-224)	120 (73-214)	115 (68-194)	110	106	107

VII.2. Répartition des patients selon la fréquence phénotypique

VII.2.1. Système ABO

On constate que les groupes du système ABO prédominent dans l'ordre décroissant suivant : groupe O, groupe A, groupe B et groupe AB.

Le groupe O se trouve chez environ la moitié des personnes phénotypées (42,56%), le groupe A est presque deux fois supérieur (33,33%) au groupe B (17,44%), le groupe AB a la fréquence la plus faible (6,67%).

Le tableau VI, compare nos prévalences des phénotypes A, B, AB et O avec ceux des études marocaines antérieures [104].

Tableau VI : Prévalence des phénotypes ABO chez la population marocaine [104].

	O (%)	A (%)	B (%)	AB (%)
Notre étude	42,46	33,33	17,44	6,67
Etude 2011	47,13	32,20	15,79	4,70
Etude 2004	46,05	33,89	15,68	4,33
Etude 2002	47,41	31,67	15,64	5,35
Etude 1995	45,00	33,63	16,07	5,25

Tableau VII : Prévalence des phénotypes ABO chez la population marocaine par rapport au reste du monde [104].

	O (%)	A (%)	B (%)	AB (%)
Congo	52,31	23,18	21,05	3,50
Ethiopie	60,00	20,00	15,00	5,00
Australie	49,00	38,00	10,00	3,00
Maroc	47,13	32,20	15,79	4,70
Tunisie	46,18	30,94	17,83	5,00
Sud Italie	49,97	33,65	15,27	4,00
Turquie	34,72	40,82	17,98	6,48
France	43,00	45,00	9,00	3,00
Allemagne	41,21	43,26	10,71	4,82
Grande-Bretagne	46,00	42,00	9,00	3,00
Canada	46,00	42,00	9,00	3,00
Ukrainiens	34,04	37,70	19,30	8,96
Kazakhstan	34,62	27,47	28,33	9,58
Russies	37,01	32,66	23,11	7,22
Biélorussie	40,36	37,23	16,55	5,86
Népal	32,50	34,00	29,00	4,00
Inde	38,75	18,85	32,69	5,27
Thaïlande	42,60	20,20	30,80	6,40

Nos résultats indiquent une fréquence des groupes A, B, AB et O confirmant les fréquences trouvées dans les études antérieures [104].

VII.2.2. Système RH

Nous constatons une nette prédominance des sujets Rh positif (92,82%) par rapport aux sujets Rh négatif (7,18%) dans notre population étudiée.

Tableau VIII comparatif des prévalences de l'antigène D dans différents échantillons de la population marocaine [104].

	Rh positif (Antigène D) (%)
Notre étude	92,82
Etude 2011	88,68
Etude 2002	91,00
Etude 1999	89,47
Etude 1995	91,23

Tableau IX: Prévalence de l'antigène D chez la population marocaine par rapport aux autres pays du monde [104].

Pays	Fréquence Rh positif
Bangladesh	97,44
Népal	96,66
Inde	94,53
Noirs américains	92 à 93
Ouganda	> à 80,94
Algérie	91,53
Maroc	88,68
Tunisie	90,81
Turquie	89,61
Canada	85
Caucasiens	85
Allemagne	82,71
Sud Italie	69,38
Basques	65

Le Maroc est plus proche de point de vue antigène D de la race africaine que de la race caucasienne.

VII.3. Répartition des taux de vWF en fonction des autres paramètres

La distribution physiologique des taux plasmatiques de vWF est large, de 50 à 160 UI/dl, reflétant la sensibilité du vWF à de nombreux facteurs génétiques et environnementaux.

VII.3.1. Répartition des taux de VWF en fonction de l'âge

Pour l'âge, on a trouvé que les taux de vWF se répartissent comme suit :

- a) Pour un âge < 20 ans : Taux de vWF dans les normes chez 20,6% (50-160%), et supérieurs aux valeurs usuelles chez 79,4% (>160%).
- b) 20 à 30 ans : Taux bas chez 0,9% (<50%), normal chez 18,1%, et élevé chez 81%.
- c) 30 à 40 ans : Taux bas chez 0,9%, normal chez 15,9%, et élevé chez 83,2%.
- d) 40 à 45 ans : Taux normal chez 23,5%, et supérieur à la normale chez 76,5%.

Donc on trouve qu'avec l'âge les taux de vWF s'élèvent. Comme montre les résultats les taux élevés sont occupés par 83,2% de la population en avançant dans l'âge. Ce qui concorde avec la littérature. Par ailleurs, le taux de vWF varie avec l'âge avec une diminution progressive de la naissance à l'âge de 1 an puis une élévation régulière [1].

VII.3.2. Répartition des taux de vWF en fonction des tests d'hémostase

1- Rapport TCA patient / TCA témoin

- a- Pour un ratio normal ($<1,2$) : Une seule patiente soit 0,3% avec un taux bas en vWF, 17,9% dans les normes et 81,8% ont un taux supérieur à la normale.
- b- Pour un ratio pathologique ($>1,2$) : 12,5% avec un taux diminué, 18,8% dans les normes, et 68,8% se sont révélés avec un taux élevé à la valeur normale.

Donc pour des taux bas en vWF ont des TCA allongé à cause du rôle du vWF qui est la molécule chaperonne du FVIII. Pour un TCA normal une seule patiente avait un taux bas en vWF, mais cela ne pose pas de contradiction puisque le TCA est raccourcis par l'augmentation des facteurs de coagulation en cette période de grossesse concordant avec résultats de la littérature [100].

2- vWF en fonction du fibrinogène

- a) Le dosage du fibrinogène n'a révélé aucune valeur inférieure à la normale (2-4g/l).
- b) Pour des valeurs normales : 1,7% avaient un taux bas en vWF, 30,0% dans les normes, et 68% avec des taux supérieurs aux valeurs usuelles.
- c) Pour les hautes valeurs en Fg ($>4g/l$) : 0,8% avaient un taux bas en vWF, 17,9% dans les normes et 81,3% avec des valeurs supérieures aux normes.

Nos résultats montrent une élévation parallèle des taux de fibrinogène et des taux vWF. Ces résultats ont été illustrés par la corrélation entre les taux de vWF et de fibrinogène par le test de *Pearson* qui est utilisé pour étudier la corrélation entre les variables quantitatives avec calcul du facteur **r** de corrélation. Au total, il existe une corrélation positive entre les taux vWF et les taux de fibrinogène avec un **r** de *Pearson* à 0,356, cette corrélation est statistiquement significative avec un **p** $<0,001$. Cela concorde avec la littérature en expliquant l'état inflammatoire et la situation physiologique de la femme enceinte [100].

3- vWF en fonction du FVIII

- 1) Toutes les patientes qui ont un taux de FVIII diminué ($<50\%$), ont un taux bas en vWF.
- 2) Pour les valeurs normales en FVIII (50-145%) : une patiente soit 3,4% avait une valeur diminuée en vWF, 86,2% dans les normes, et 10,3% supérieures aux normes.

3) Pour des taux élevés en FVIII (>145%) : 12,5% dans les normes et 87,5% avec des taux élevés.

Nos résultats montrent une nette relation entre les taux de FVIII et de vWF du fait que la baisse des taux de ce dernier influence les taux de FVIII. Il est noté que 92,05% de notre population présentaient des taux élevés en FVIII et 87,5% avaient des taux élevés en vWF. Du même, on confirme ces résultats en étudiant la corrélation entre le vWF et FVIII par le test de *Pearson* avec calcul du facteur **r** de corrélation. On a trouvé qu'il existe une corrélation positive entre le facteur VIII et le facteur de vWF avec un **r** de *Pearson* à 0,597 d'une façon significative **p**<0,001. Cela concorde avec la littérature. vWF circule dans le plasma avec le facteur VIII sous forme de complexe non-covalent. Cette interaction assure la survie de facteur VIII dans la circulation. Tout changement dans le niveau de vWF plasmatique est couplé à un changement concordant dans la concentration plasmatique du facteur VIII.

Dans des conditions cliniques associées à un niveau élevé de vWF telle qu'une malignité, une septicémie ou une maladie du foie, le niveau de facteur VIII semble augmenter. De même, les stimuli physiologiques tels que l'exercice ou la grossesse augmentent également le niveau de vWF, avec une augmentation concomitante de facteur VIII. Ces exemples illustrent clairement que le vWF est essentiel pour la stabilisation du facteur VIII dans la circulation. L'opposé est, toutefois, pas le cas: le niveau plasmatique de vWF n'est pas influencé par celui du facteur VIII [105].

VII.3.3. Influence du groupe sanguin ABO sur les taux de vWF et FVIII

On constate que les taux de vWF selon les groupes du système ABO varient dans le sens suivant : groupe O < A < B < AB (De même pour le FVIII).

Ces résultats ont été obtenus en utilisant une analyse de variance, on retrouve une différence statistiquement significative concernant le vWF et le FVIII entre les quatre groupes sanguins : **p**<0,001. Après correction de Benferoni on retrouve que le taux de vWF du groupe sanguin O est statistiquement différent des autres groupes (plus faible). De même pour le FVIII, le taux chez le groupe O est plus faible que celui du groupe B, AB et A de façon significative.

Le vWF est synthétisé sous forme d'un monomère pré-pro-polypéptide de 2813 acides aminés. Chaque monomère contient 12 potentiels de N-glycosylation et 10 sites de O-glycosylation, dont certains sont modifiés par des déterminants du groupe sanguin ABO.

Pour l'évaluation des différences des taux de vWF entre les quatre groupes, une analyse de variance *ANOVA* a été réalisée. Les niveaux de vWF étaient les plus élevés chez les sujets ayant soit le groupe B ou AB, alors qu'ils étaient les plus bas chez les sujets de groupe O. Ce qui concorde à la littérature expliquant l'influence des gènes dits « modulateurs », pour lesquels différents loci ont été identifiés sur le locus ABO qui est notamment responsable de près du tiers de la variabilité d'origine génétique des taux plasmatiques du vWF.

Par ailleurs, la distribution de l'activité FVIII est également plus basse chez les sujets de groupe O et plus élevée dans les groupes B ou AB.

Tous ces résultats concordent à une étude épidémiologique prospective très récente menée dans quatre communautés des Etats-Unis, conçue pour étudier et examiner les effets intrinsèques du groupe ABO sur les taux de vWF et FVIII [106].

CONCLUSION

La distribution physiologique des taux plasmatiques du vWF est large, reflétant la sensibilité de cette glycoprotéine à des facteurs génétiques (cas système ABO sanguin) et environnementaux (cas de grossesse), tout en exposant la vie de certains sujets à des risques hémorragiques en cas de déficit quantitatif ou qualitatif du vWF (MW). Le bilan de dépistage de la MW repose sur la réalisation simultanée de plusieurs tests d'hémostase. Actuellement, les nouveaux tests évaluant la liaison vWF-GpIb α (vWF:Act : test utilisé dans notre étude) constituent un véritable progrès sur le plan diagnostique de la MW et une alternative au *vWF:RCO*, bien que ce dernier demeure encore le test fonctionnel de référence.

La grossesse normale s'accompagne de modifications majeures de l'hémostase, allant dans le sens d'un état d'hypercoagulabilité, suite à l'élévation de certains facteurs de l'hémostase.

La présente étude qui témoigne d'une bonne collaboration entre les différents acteurs ne représente que le prélude à des enquêtes de plus grande envergure.

RESUMES

RESUME

Titre : Le facteur Von Willebrand et grossesse : Etude prospective chez 390 femmes enceintes

Auteur : Hassane MAMAD

Introduction : Le vWF est une glycoprotéine qui joue un rôle important dans l'hémostase, dont son déficit quantitatif ou qualitatif induit une pathologie hémorragique (Maladie de Willebrand). Le but de notre étude est de mettre le point sur la répartition des taux de vWF dans la population marocaine chez les femmes enceintes et sa variabilité en fonction du groupe sanguin ABO.

Matériels et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective réalisée au CH Ibn Sina Rabat en collaboration entre le laboratoire central d'hématologie, le centre de traitement de l'hémophilie et les urgences de la maternité Souissi. Cette étude a intéressé 390 femmes enceintes provenant de la région Rabat-Salé-Kenitra dont la taille de l'échantillon a été calculée sur la base d'une prévalence de 1% correspondant à la prévalence mondiale de la MW avec une marge d'erreur de 5% et un niveau de confiance de 95%.

Résultats : 317 cas sur 390 femmes enceintes, se sont révélées avec des taux élevés aux normes (>160%) en vWF soit 81,28%. Les taux de FVIII varient en parallèle de façon significative $p < 0,001$ avec les taux de vWF avec un r de *Pearson* à 0,597. La distribution des groupes sanguins ABO a eu une influence sur le taux de vWF avec une différence significative $p < 0,001$ entre les quatre groupes : Niveau moyen le plus bas chez le groupe O ($188,54 \pm 57,02$), suivi par le groupe A ($203,19 \pm 54,46$), puis le groupe AB ($219 \pm 38,95$), et enfin le groupe B ($221,15 \pm 48,63$).

Conclusion : Nos résultats concordent avec ceux de la littérature et confirment d'une part l'élévation des taux de vWF pendant la grossesse et d'autre part l'influence du groupe sanguin ABO sur les taux du vWF.

ABSTRACT

Title: Von Willebrand Factor and pregnancy: prospective study of 390 pregnant women

Author: Hassane MAMAD

Keywords: Pregnancy – hemostasis – Von Willebrand Factor – Von Willebrand disease.

Introduction: The VWF is a glycoprotein that play an important role in hemostasis, which its quantitative or qualitative deficiency induces an hemorrhagic pathology (Von Willebrand disease). The objective of our study is to point out the rates repartition of VWF in pregnant women of the Moroccan population and its variability in function of the ABO blood group.

Material and Methods: This is a prospective study at CH Ibn Sina Rabat in collaboration between Central Laboratory Hematology, Hemophilia Treatment Center and Souissi maternity emergencies. This study explores 390 pregnant women who participated from Kenitra-Rabat-Salé region whose the sample size was calculated based on a prevalence of 1% , corresponding to the global prevalence of WD with a margin of error of 5% and a confidence level of 95%.

Results: 317 cases of 390 pregnant women were found with elevated levels than norms (> 160 %) of VWF that to say 81.28%. FVIII rates vary in parallel with the VWF rates of a Pearson r of 0.597 and significantly with $p < 0.001$. The presence of the ABO blood group had an influence on the VWF values with a significant difference of $p < 0,001$ among four groups: individuals with blood group O had the lowest mean (188.54 ± 57.02) followed by group A (203.19 ± 54.46) then group AB (219 ± 38.95), and finally group B (221.15 ± 48.63).

Conclusion: Our results are consistent with the literature and confirm on one hand the rise in VWF levels during pregnancy and on the other hand the influence of the ABO blood group on VWF levels.

ملخص

العنوان: عامل فون ويلبراند والحمل: دراسة مستقبلية ل 390 امرأة حامل

المؤلف: حسن ماماد

الكلمات الرئيسية: الحمل – تخثر الدم – عامل فون ويلبراند – مرض ويلبراند.

مقدمة: عامل فون ويلبراند هو بروتين سكري يلعب دورا هاما في تخثر الدم، ويشكل العجز الكمي أو النوعي لهذا العامل مرضا نزفيا (مرض ويلبراند). الهدف من دراستنا هو استعراض توزيع مستويات عامل فون ويلبراند في سكان المغرب لدى النساء الحوامل وتغيراته على أساس فصيلة الدم (أ، ب، و).

الآليات والأساليب: هذه دراسة مستقبلية اجريت بالمركز الاستشفائي ابن سينا بالرباط بالتعاون بين المختبر المركزي لعلم الدم، مركز علاج مرض الناعور ومستعجلات مصلحة الولادة السويسي. شملت هذه الدراسة 390 امرأة حامل من منطقة القنيطرة-الرباط-سلا التي تم حسابها على أساس معدل انتشار 1% المقابل للانتشار العالمي لمرض ويلبراند مع هامش خطأ حجم العينة 5% ومستوى ثقة 95%.

النتائج: في 317 حالة من أصل 390 امرأة حامل، تم العثور على مستويات مرتفعة (>160%) لعامل فون ويلبراند ما يعني 81,28%. تختلف معدلات عامل تخثر الدم الثامن بالتوازي مع معدل عامل فون ويلبراند بمعدل $r = 0.597$ وبشكل ملحوظ $p < 0,001$. كان لوجود مجموعات فصائل الدم تأثير على مستويات عامل فون ويلبراند واختلاف ملحوظ $p < 0,001$ بين المجموعات الأربعة: أدنى مستوى متوسط في المجموعة (و) (188.54 ± 57.02) تليها المجموعة (أ) (203.19 ± 54.46) والمجموعة (ب) (219 ± 38.95)، وأخيرا المجموعة (ب) (221.15 ± 48.63).

الخلاصة: النتائج التي حصلنا عليها، تتطابق مع الدراسات السابقة المنجزة في نفس الموضوع، وتؤكد من جهة ارتفاع مستويات عامل فون ويلبراند خلال فترة الحمل، وكذلك تأثير فصيلة الدم (أ، ب، و) على مستوياته.

Annexes

Annexe 1

Fiche d'exploitation épidémiologique

N° de la fiche :

Nom :

Prénom :

Date de naissance :

N° de téléphone :

Histoire hémorragique

Personnels : saignement significatif si : au moins 2 symptôme, ou un symptôme nécessitant une transfusion ou 1 symptôme récurrent au moins 3 fois

- Epistaxis
- Saignement de blessures minimales
- Ecchymoses
- Saignement buccal
- Hémorragie digestive
- Saignement/ extraction dentaire
- Ménorragie
- hémorragie du post-partum
- Hématomes musculaires
- Hémarthrose
- Autres antécédents :

Familiaux : significatifs si 1 parent premier degrés ou 2 parents deuxième degrés

- Consanguinité :degrés :
- Parents premier degrés :
- Parents deuxième degrés :

REFERENCES

- [1]-Antoine Rauch, Claudine Caron, Sophie Susen, Jenny Goudemand. Facteur von Willebrand et maladie de Willebrand : nouvelles approches. *Revue Francophone des Laboratoires* Volume 2014, Issue 463, June 2014, Pages 53–63
- [2]-Janel N et al. *Mamm Genome*. The localization of the von Willebrand factor gene on cattle, sheep and goat chromosomes illustrates karyotype evolution in mammals. 1996 Aug;7(8):633-634
- [3]- Fressinaud E., Meyer D. *Maladie de Willebrand*. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Hématologie, 13-021-A-50, 2008
- [4]-Zhou YF, Eng ET, Zhu J, et al. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor. *Blood* 2012;120(2):449-58.
- [5]- Shapiro SE, Nowak AA, Wooding C, Birdsey G, Laffan MA, McKinnon TA. The von Willebrand factor predicted unpaired cysteines are essential for secretion. *J Thromb Haemost*. 2014;12(2): 246-254.
- [6]- Katsumi A, Tuley EA, Bodó I, Sadler JE. Localization of disulfide bonds in the cystine knot domain of human von Willebrand factor. *J Biol Chem*. 2000;275(33):25585-25594.
- [7]- Petre J. et al. von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends.
- [8]-Samor B, Michalski JC, Debray H, et al. Primary structure of a new tetraantennary glycan of the N-acetylglucosaminic type isolated from human factor VIII/von Willebrand factor. *Eur J Biochem*. 1986;158(2):295-298.
- [9]- Canis K, McKinnon TA, Nowak A, et al. The plasma von Willebrand factor O-glycome comprises a surprising variety of structures including ABH antigens and disialosyl motifs. *J Thromb Haemost*. 2010;8(1):137-145.
- [10]-Claudine Caron. Protéase de clivage du facteur willebrand (ADAMTS-13) et purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT). *Revue Francophone des Laboratoires*.
- [11]- Reinders JH, De Groot PG, Dawes J et al. Comparison of secretion and subcellular localization of von Willebrand protein with that of thrombospondin and @bronectin in cultured human vascular endothelial cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 1985; 844: 306-313.
- [12]- Loesberg C, Gonsalves MD, Zandbergen J et al. The effect of calcium on the secretion of factor VIII-related antigen by cultured human endothelial cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 1983; 763: 160-168.
- [13]- Weibel ER & Palade GE. New cytoplasmic components in arterial endothelia. *Journal of Cell Biology* 1964; 23: 101-112.

- [14]- Sengel A, Stoeber P. Golgi origin of tubular inclusions in endothelial cells. *Journal of Cell Biology* 1970; 44: 223-226.
- [15]. Kelly RB. Pathways of protein secretion in eukaryotes. *Science* 1985; 230: 25-32.
- [16]- Wagner DD, Sacaripour S, Bonfanti R et al. Induction of specific storage organelles by von Willebrand factor propeptide. *Cell* 1991; 64: 403-413.
- [17]- Mayadas TN & Wagner DD. Vicinal cysteines in the prosequence play a role in von Willebrand factor multimer assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1992; 89: 3531-3535.
- [18]- Sporn LA, Marder VJ & Wagner DD. Inducible secretion of large, biologically potent von Willebrand factor multimers. *Cell* 1986; 46: 185-190.
- [19]- Eijnden-Schrauwen Y, Atsma DE, Lupu F et al. Involvement of calcium and G proteins in the acute release of tissue-type plasminogen activator and von Willebrand factor from cultured human endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 1997; 17: 2177-2187.
- [20]- Kaufmann JE, Oksche A, Wollheim CB et al. Vasopressin-induced von Willebrand factor secretion from endothelial cells involves V2 receptors and cAMP. *Journal of Clinical Investigation* 2000; 106: 107±116.
- [21]- Sporn LA, Marder VJ & Wagner DD. Inducible secretion of large, biologically potent von Willebrand factor multimers. *Cell* 1986; 46: 185±190.
- [22]- Borchellini A, Fijnvandraat K, ten Cate JW et al. Quantitative analysis of von Willebrand factor propeptide release in vivo: effect of experimental endotoxemia and administration of 1-deamino-8-D-arginine vasopressin in humans. *Blood* 1996; 88: 2951±2958.
- [23]- Nichols WC, Ginsburg D. Von Willebrand disease. *Medicine* 1997; 76 : 1-20.
- [24]- Koster T, Blann AD, Briet E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet* 1995; 345 : 152-5.
- [25]- Orstavik KH, Magnus P, Reisner H, Berg K, Graham JB, Nance W. Factor VIII and factor IX in a twin population. Evidence for a major effect of ABO locus on factor VIII level. *Am J Hum Genet* 1985 ; 37 : 89-101.
- [26]- Yamamoto F. Review : ABO blood group system--ABH oligosaccharide antigens, anti-A and anti-B, A and B glycosyltransferases, and ABO genes. *Immunohematol* 2004 ; 20 : 3-22.

- [27]- Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks Jr. WJ, Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood* 1987 ; 69 : 1691-5.
- [28]- Vlot AJ, Mauser-Bunschoten EP, Zarkova AG, Haan E, Kruitwagen CL, Sixma JJ, van den Berg HM. The half-life of infused factor VIII is shorter in hemophiliac patients with blood group O than in those with blood group A. *Thromb Haemost* 2000 ; 83 : 65-9.
- [29]- Marcus DM. The ABO, Hh, secretor, and Lewis systems. *Immunol Ser* 1989 ; 43 : 685-99.
- [30]- O'Donnell J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA. Genotype at the secretor blood group locus is a determinant of plasma von Willebrand factor level. *Br J Haematol* 2002; 116: 350-6.
- [31]- Ellies LG, Ditto D, Levy GG, Wahrenbrock M, Ginsburg D, Varki A, Le DT, Marth JD. Sialyltransferase ST3Gal-IV operates as a dominant modifier of hemostasis by concealing asialoglycoprotein receptor ligands. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ;99 : 10042-7.
- [32]- Mohlke KL, Nichols WC, Westrick RJ, Novak EK, Cooney KA, Swank RT, Ginsburg D. A novel modifier gene for plasma von Willebrand factor level maps to distal mouse chromosome 11. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 15352-7.
- [33]- Petryniak B, Lowe JB, Ginsburg D. MVWF, a dominant modifier of murine von Willebrand factor, results from altered lineage-specific expression of a glycosyltransferase. *Cell* 1999 ; 96 : 111-20.
- [34]- Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, Yang AY, Siemieniak DR, Stark KR, Gruppo R, Sarode R, Shurin SB, Chandrasekaran V, Stabler SP, Sabio H, Bouhassira EE, Upshaw Jr. JD, Ginsburg D, Tsai HM. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001 ; 413 : 488-94.
- [35]- Bowen DJ. An influence of ABO blood group on the rate of proteolysis of von Willebrand factor by ADAMTS13. *J ThrombHaemost* 2003 ; 1 : 33-40.
- [36]- Turecek PL, Gritsch H, Pichler L, Auer W, Fischer B, Mitterer A, Mundt W, Schlokaf F, Dorner F, Brinkman HJM, van Mourik JA, Schwarz HP. In vivo characterization of recombinant von Willebrand factor in dogs with von Willebrand disease. *Blood* 1997 ; 90 : 3555-67
- [37]- Keightley AM, Lam YM, Brady JN, Cameron CL, Lillicrap D. Variation at the von Willebrand factor (VWF) gene locus is associated with plasma VWF :Ag levels : identification of three novel single nucleotide polymorphisms in the VWF gene promoter. *Blood* 1999 ; 93 : 4277-83.

[38]- Mannucci PM, Lombardi R, Castaman G, Dent JA, Lattuada A, Rodeghiero F, Zimmerman TS. von Willebrand disease "Vicenza" with larger-than-normal (supranormal) von Willebrand factor multimers. *Blood* 1988 ; 71 : 65-70.

[39]- Borchiellini A, Fijnvandraat K, ten Cate JW, Pajkrt D, van Deventer SJ, Pasterkamp G, Meijer-Huizinga F, Zwart-Huinink L, Voorberg J, van Mourik JA. Quantitative analysis of von Willebrand factor propeptide release in vivo: effect of experimental endotoxemia and administration of 1-deamino-8-D-arginine vasopressin in humans. *Blood* 1996; 88 : 2951-8.

[40]- van Schooten CJ, Tjernberg P, Westein E, Terraube V, Castaman G, Hollestelle MJ, Vos HL, Bertina RM, van den Berg HM, Eikenboom JC, Lenting PJ, Denis CV. Cysteine mutations in von Willebrand factor associated with increased clearance. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 2228-37.

[41]-Takagi J, Sekiya F, Kasahara K et al. Inhibition of platelet±collagen interaction by propolypeptide of von Willebrand factor. *Journal of Biological Chemistry* 1989; 264: 6017-6020.

[42]-Takagi J, Kasahara K, Sekiya F et al. A collagen-binding glycoprotein from bovine platelets is identical to propolypeptide of von Willebrand factor. *Journal of Biological Chemistry* 1989; 264: 10 425±10 430.

[43]-Fujisawa T, Takagi J & Sekiya F et al. Monoclonal antibodies that inhibit binding of propolypeptide of von Willebrand factor to collagen. Localization of epitopes. *European Journal of Biochemistry* 1991; 196: 673-677.

[44]-Takagi J, Asai H & Saito Y. A collagen/gelatin-binding decapeptide derived from bovine propolypeptide of von Willebrand factor. *Biochemistry* 1992; 31: 8530-8534.

[45]-Takagi J, Sudo Y, Saito T & Saito Y. b1-integrin-mediated adhesion of melanoma cells to the propolypeptide of von Willebrand factor. *European Journal of Biochemistry* 1994; 222: 861-867.

[46]-Lenting PJ, Van Mourik JA & Mertens K. The life cycle of coagulation factor VIII in view of its structure and function. *Blood* 1998; 92: 3983-3996.

[47]-Vlot AJ, Koppelman SJ, van den Berg MH et al. The affinity and stoichiometry of binding of human factor VIII to von Willebrand factor. *Blood* 1995; 85: 3150±3157.

[48]-Schwarz HP, Lenting PJ, Binder B et al. Involvement of low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) in the clearance of factor VIII in von Willebrand factor-deficient mice. *Blood* 2000; 95: 1703±1708.

[49]- T. de Revel. K. Doghmi. *Physiologie de l'hémostase*. EMC-Dentisterie 1 (2004) 71–81

50-Zaverio M Ruggeri. The role of von Willebrand factor in thrombus formation. *Thromb Res*. 2007; 120(Suppl 1): S5–S9. doi:10.1016/j.thromres.2007.03.011).

- [51]- Ruggeri ZM. Old concepts and new developments in the study of platelet aggregation. *J Clin Invest* 2000;105:699–701. [PubMed: 10727435]
- [52]-Bellucci S. Physiologie de l'hémostase primaire. *Encycl Méd Chir, Hématologie*, 13-019-A-05, 2002, 9 p.
- [53]- François Jobin. L'HENOSTASE. Les presses de l'Université Laval Editions Maloine. Canada. Page 13-31.
- [54]- Scott JP, Montgomery RR. The rapid differentiation of type IIB von Willebrand's disease (MW) from platelettype (pseudo)-MW by the « neutral » monoclonal antibody binding assay. *Am J Clin Pathol* 1991; 96: 723-728.
- [55]- Nurden P, Debili N, Vainchenker W, et al. Impaired megakaryocytopoiesis in type 2B von Willebrand disease with severe thrombocytopenia. *Blood* 2006;108(8):2587-95.
- [56]- Von Willebrand EA. Hereditary pseudo-haemophilia (English translation).*Haemophilia* 1999 May; 5(3) :223-231.
- [57]- Sukhu K, Poovalinagam V, Mahomed R et al, Ethnic variation in Von Willebrand factor levels can influence the diagnosis of Von Willebrand disease *Clin Lab Haematol* 2003 Aug;25 (4):247-249.
- [58]- Rodeghiero F, Castaman G, Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood*1987 ; 69 : 454-459.
- [59]- Sadler JE, Mannucci PM, Berntorp E, et al. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 2000; 84: 160-74.
- [60]- Silwer J. Von Willebrand's disease in Sweden. *Acta Pediatr Scand [suppl]* 1973 ; 238 : 1-159.
- [61]- Miller CH, Graham JB, Goldin LR, Elston RC. Genetics of classic von Willebrand's disease. I. Phenotypic variation within families. *Blood* 1979 ; 54 : 117-145.
- [62]- Kadir RA, Economides DL, Sabin CA, Owens D, Lee CA. Frequency of inherited bleeding disorders in women with menorrhagia. *Lancet* 1998 ; 351 : 485-489.
- [63]- Greer IA, Lowe GD, Walker JJ, Forbes CD. Haemorrhagic problems in obstetrics and gynaecology in patients with congenital coagulopathies. *Br J Obstet Gynaecol*1991;98 : 909-918.
- [64]- Rick ME, Williams SB, Sacher RA, McKeown LP. Thrombocytopenia associated with pregnancy in a patient with type IIB von Willebrand's disease. *Blood* 1987 ; 69 : 786-789

- [65]- Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, et al. Screening for von Willebrand disease with a new analyser using high shear stress. A study of 60 cases. *Blood* 1998 ; 91 : 1325-31.
- [66]- Bennett ST, Lehman CM, Rodgers GM. *Laboratory Hemostasis: A Practical Guide for Pathologist* 2007: pp 108-120
- [67]- Federici A. B. Clinical diagnosis of Von Willebrand Disease. *Haemophilia* (2004), 10, (suppl. 4), 169-176.
- [68]- Rodgers RP, Levin J. A Critical reappraisal of the bleeding time. *Semin Thromb Hemost* 1990 Jan ;16(1) :1-20.
- [69]- Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F et al Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress : a study of 60 cases. *Blood* 1998Feb ;91(4) :1325-1331.
- [70]- P.-Y. Lovey, R. Zenhäusern et M. Stalder, CONSILIA Sion. Investigation de l'hémostase primaire in vitro par le Platelet Function Analyzer (PFA-100). juin 2004. Volume 6 - Numéro 6
- [71]- Bennett ST, Lehman CM, Rodgers GM. *Laboratory Hemostasis: A Practical Guide for Pathologist* 2007: pp 108-120
- [72]- Veyradier A, Fressinaud E, Meyer D. Laboratory diagnosis of von Willebrand's disease. *Int J Clin Lab Res* 1998 ; 28 : 201-210
- [73]- Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ, Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand's disease. *Blood* 1987 ; 69 : 1691-1695
- [74]- McFarlane DE, Stibbe K, Kirby EP, Zucker MB, Grant RA, Mcpherson J. A method for assaying von Willebrand's factor (ristocetin cofactor). *Thromb Diath Haemorrh* 1975 ;34 : 306-308
- [75]- Flood VH, Gill JC, Morateck PA, et al. Common VWF exon 28 polymorphisms in African Americans affecting the VWF activity assay by ristocetin cofactor. *Blood* 2010;116(2):280-6.
- [76]- Trossaert M, Ternisien C, Lefrancois A, et al. Evaluation of an automated von Willebrand factor activity assay in von Willebrand disease. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011;17(6):E25-9.
- [77]- Lawrie AS, Stufano F, Canciani MT, et al. A comparative evaluation of a new automated assay for von Willebrand factor activity. *Haemophilia* 2013;19(2):338-42.
- [78]- Howard MA, Firkin RG. Ristocetin: a new tool in the investigation of platelet aggregation. *Thromb Diath Haemorrh*1971 ; 26 : 362-369
- [79]- Ruggeri ZM, Zimmerman TS. Variant von Willebrand's disease. Characterization of two subtypes by analysis of multimeric composition of factor VIII/von Willebrand's factor in plasma and platelets. *J Clin Invest* 1980 ; 65 : 1318-1325
- [80]- Ruggeri ZM, Zimmerman TS. The complex multimeric composition of factor VIII/von Willebrand's factor. *Blood*1981 ; 57 : 1140-1143

- [81]-A. B. Federici. The 80th anniversary of von Willebrand's disease: history, management and research. *Haemophilia* (2006), 12, 563-572
- [82]- Trzeciak MC et Bordet JC. Exploration de l'hémostase primaire. *Encycl Méd Chir* (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS), Hématologie, 13-019-A-10, 2002, 5 p.
- [83]- Rodeghiero F, Castaman G, Tosetto A, Lattuada A. Platelet von Willebrand's factor assay: results using two methods for platelet lysis. *Thromb Res* 1990 ; 59 : 259-267
- [84]- Scott JP, Montgomery RR, Retzinger GS. Dimeric ristocetin flocculates proteins, binds to platelets and mediates von Willebrand's factor-dependent agglutination of platelets. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 8149-8155
- [85]- Brinkhous KM, Read MS. Use of venom coagglutinin and lyophilized platelets in testing for platelet-aggregating von Willebrand's factor. *Blood* 1980 ; 55 : 517-523
- [86]- Flood VH, Gill JC, Christopherson PA, et al. Comparison of type I, type III and type VI collagen binding assays in diagnosis of von Willebrand disease. *J Thromb Haemost.* 2012;10(7): 1425-1432.
- [87]- Montgomery RR, Hathaway WE, Johnson J, Jacobson L, Muntean W. A variant of von Willebrand's disease with abnormal expression of factor VIII procoagulant activity. *Blood.* 1982; 60(1):201-207.
- [88]- Flood VH, Gill JC, Morateck PA, et al. Common VWF exon 28 polymorphisms in African Americans affecting the VWF activity assay by ristocetin cofactor. *Blood.* 2010;116(2):280-286.
- [89]- Flood VH, Friedman KD, Gill JC, et al. No increase in bleeding identified in type 1 VWD subjects with D1472H sequence variation. *Blood.* 2013;121(18):3742-3744.
- [90]- Haberichter SL, Castaman G, Budde U, et al. Identification of type 1 von Willebrand disease patients with reduced von Willebrand factor survival by assay of the VWF propeptide in the European study: molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 VWD (MCMDM-1VWD). *Blood.* 2008;111(10): 4979-4985.
- [91]- Carole Émile. *Biologiste*, CH de Montfermeil (93)
- [92]- Weiss HJ, Meyer D, Rabinowitz R, Pietu G, Girma JP, Vicic WJ et al. Pseudo-von Willebrand's disease. An intrinsic platelet defect with aggregation by unmodified human factor VIII/von Willebrand's factor and enhanced adsorption of its high-molecular-weight multimers. *N Engl J Med* 1982 ; 306 : 326-333

- [93]- Russell SD, Roth GJ. Pseudo-von Willebrand's disease: a mutation in the platelet glycoprotein-Ib-alpha gene associated with a hyperactive surface receptor. *Blood*1993 ; 81 : 1787-1791
- [94]- Mannucci PM, Ruggeri ZM, Pareti FI, Capitanio A. 1-deamino-8-D-arginine vasopressin: a new pharmacological approach to the management of haemophilia and von Willebrand's disease. *Lancet* 1977 ; 1 : 869-872
- [95]- Smiley RK, Tittley P, Rock G. Studies on the prolonged bleeding time in von Willebrand's disease. *Thromb Res*1989 ; 53 : 417-426
- [96]- Cattaneo M, Moia M, Dellavalle P, Castellana P, Mannucci PM. dDAVP shortens the prolonged bleeding times of patients with severe von Willebrand's disease treated with cryoprecipitate. Evidence for a mechanism of action independent of released von Willebrand's factor. *Blood* 1989 ; 74 : 1972-1975
- [97]- NHBI. The Diagnosis, Evaluation, and management of von Willebrand Disease. NIH publication 2007 : pp 46.
- [98]- Bellucci S. Physiologie de l'hémostase primaire. *Encycl Méd Chir, Hématologie*, 13-019-A-05, 2002, 9 p.
- [99]- Paula D et al. von Willebrand Disease. *Genet Med*. 2011 May ; 13[5]
- [100]- C. Boyer-Neumann. Hémostase et grossesse. 5-043-A-10.
- [101]- Denis Massignon. Fausses couches spontanées et morts fœtales in utero liées à des anomalies de l'hémostase. *Revue francophone des laboratoires*. Avril 2010. N° 421.
- [102]- Bremme KA. Haemostatic changes in pregnancy. *Best Pract Res Clin Haematol* 2003;16:153-68.
- [103]- Sanchez-Luceros A, Farias CE, Amaral MM, Lazzari MA. Von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) activity in normal non-pregnant women, pregnant and post-delivery women. *J ThrombHaemost* 2004;92:1320-6.
- [104]- Zineb Talamçani. Les fréquences phénotypiques et génotypiques des systèmes ABO, Rh et Kell dans la population marocaine.

[105]- Thalia Romani de Wit. Biosynthesis, processing and secretion of von Willebrand factor: biological implications. *Best Practice & Research Clinical Haematology* Vol. 14, No. 2, pp. 241-255, 2001

[106]- Jaewoo Song et al. Quantitative Influence of ABO Blood Groups on Factor VIII and Its Ratio to von Willebrand Factor, Novel Observations from an ARIC Study of 11,673 Subjects. August 5, 2015

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم
وأحسن بالتواضع والعظمة

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأنا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أنلا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.



حامل فون ويلبراند والحمل
دراسة مستقبلية لـ 390 امرأة حامل
أطروحة:

قدمت ونوقشت علانية يوم

من طرفه

السيد: حسن ماماد
المزداد في 01 غشت 1990 بفجيج

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: تخثر الدم - حامل فون ويلبراند - مرض ويلبراند - الحمل.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة:

رئيس	السيد	محمد الخرساني
مشرف	السيد	أستاذ في طب الأطفال عزالعرب مسرار
أعضاء	السيد	أستاذ في علم الدم البيولوجي أنس الشنكيطي الانصاري
	السيد	أستاذ في طب النساء والتوليد عبدالله الدامي
	السيدة	أستاذ في علم الكيمياء الحيوية سعاد بنكيران
		أستاذة في علم الدم البيولوجي