

PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE

Pr Yesim Dargaud

ydargaud@univ-lyon1.fr

UCBL Faculté de Médecine Lyon Est

DFGSM2 - 2025

HEMOSTASE: Processus physiologique qui permet de maintenir l'intégrité du vaisseau lors d'une agression vasculaire.



Coagulation



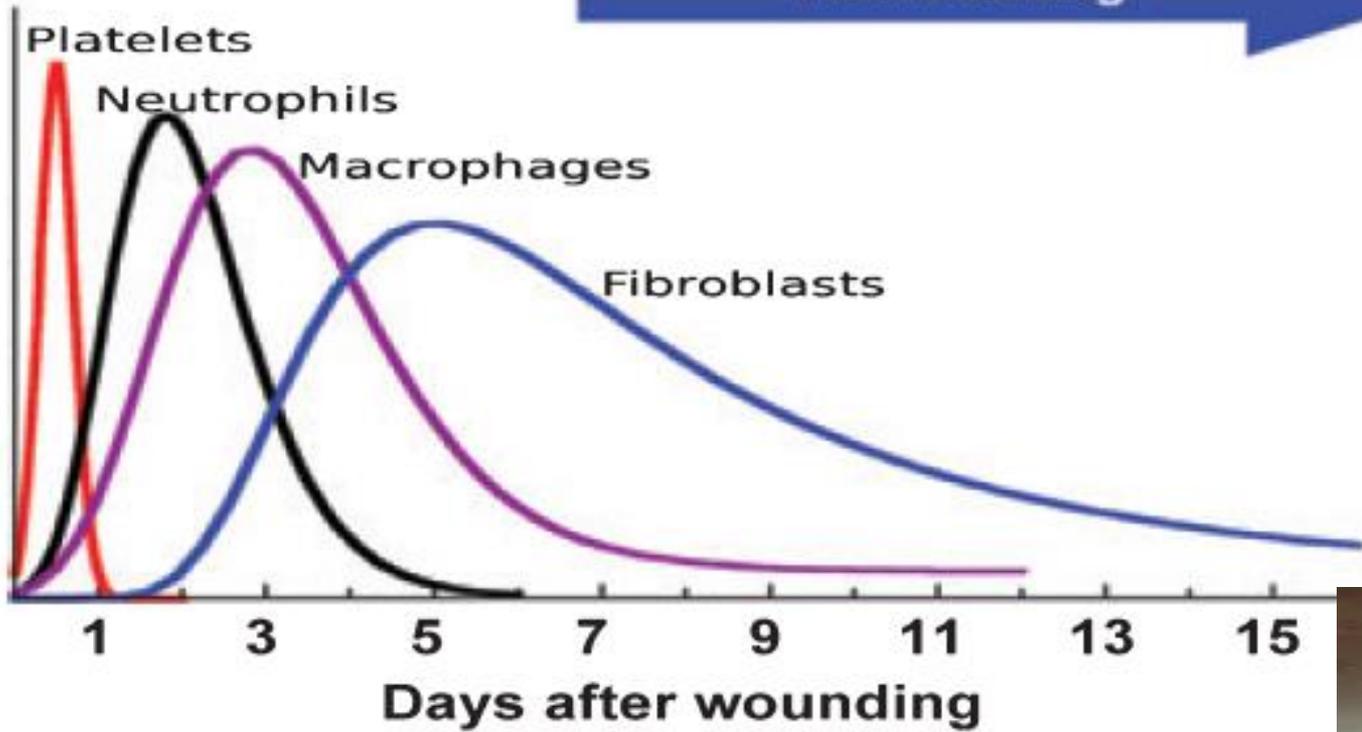
Inflammation



Migration/proliferation

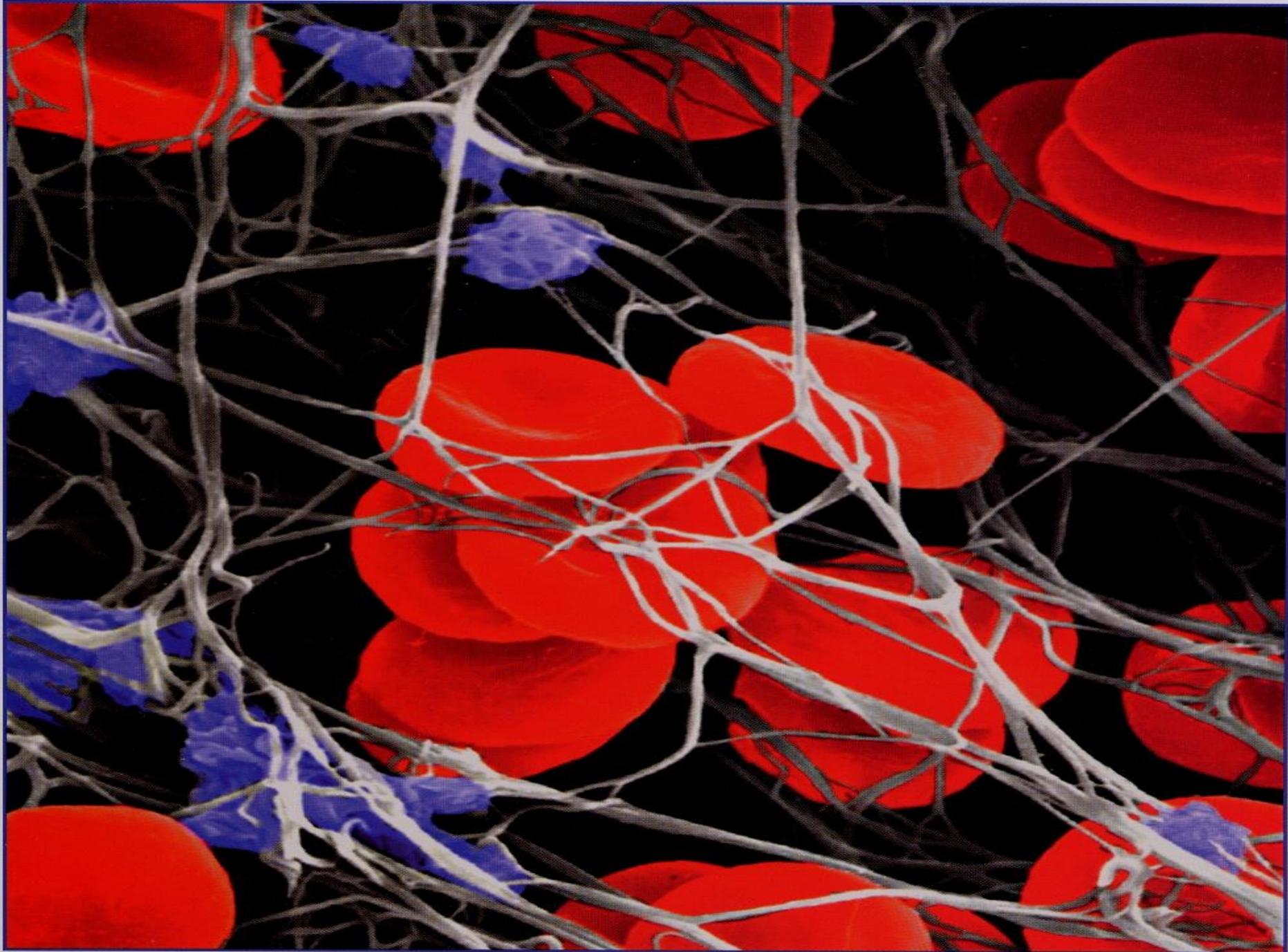


Remodelling

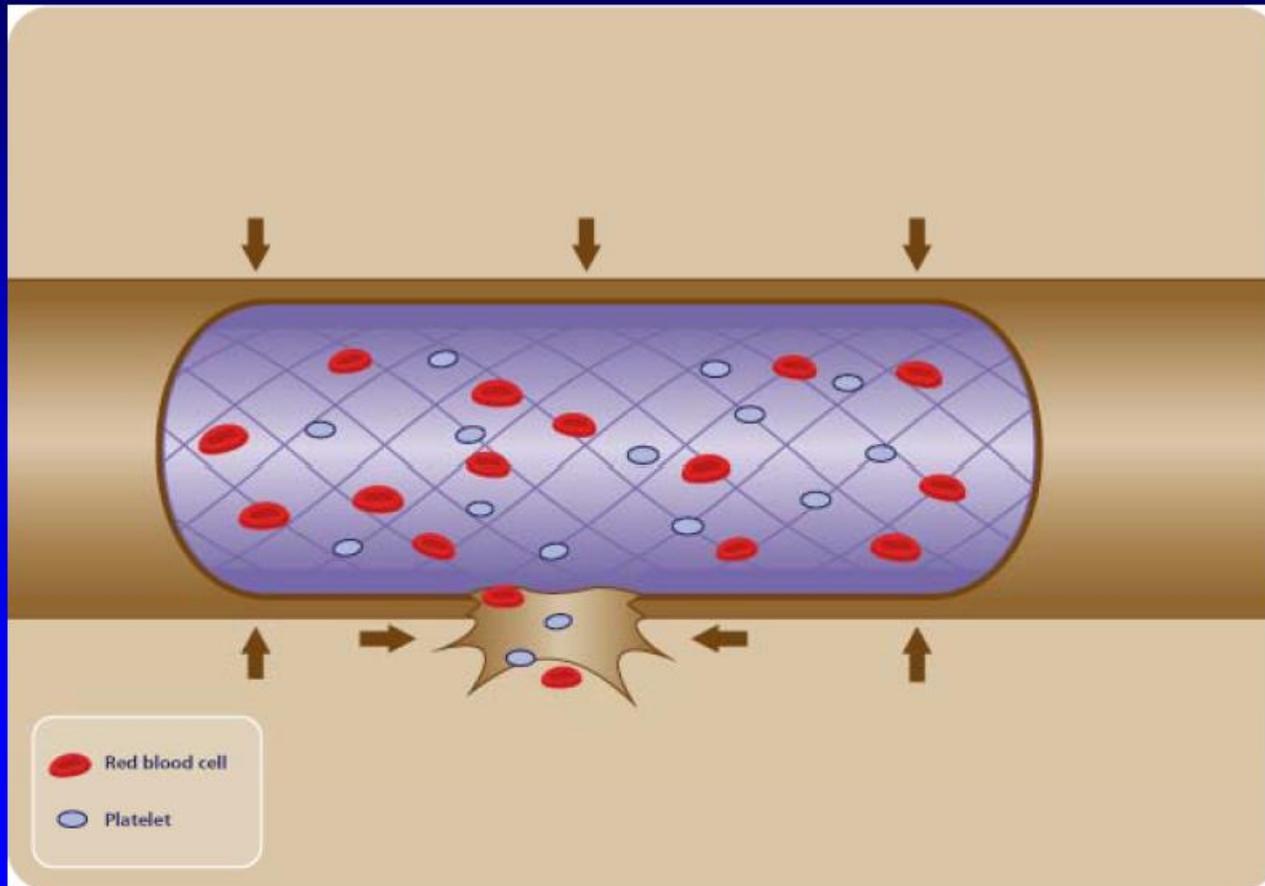


Les principales caractéristiques de la coagulation du sang

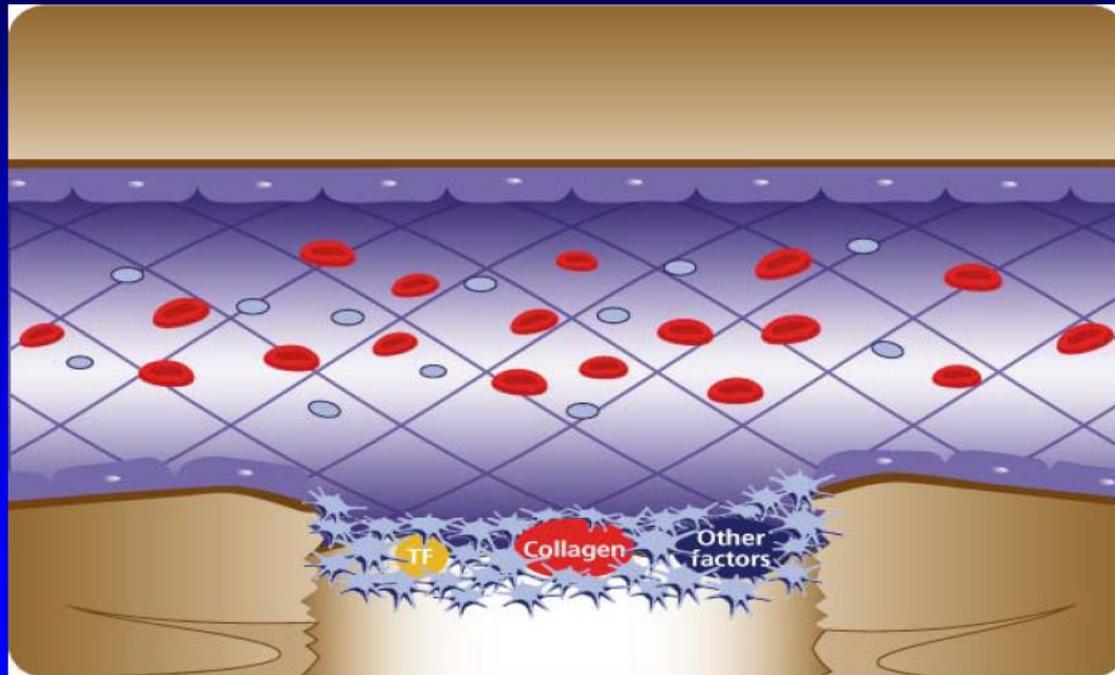
- Un événement provoqué (lésion vasculaire)
- Localisé à la brèche vasculaire
- Le thrombus hémostatique (plaquettes + fibrine) résulte d'une succession de réactions enzymatiques se déroulant sur une surface phospholipidique (plaquettes activées)
- Ces réactions enzymatiques sont des protéolyses limitées qui convertissent des pro-enzymes en enzymes
- Important processus d'auto-amplification (rapidité = efficacité)
- Contrôle négatif limitant la diffusion à distance de la brèche
- Le thrombus hémostatique permet la cicatrisation
- La fibrine est ensuite dissoute (fibrinolyse)



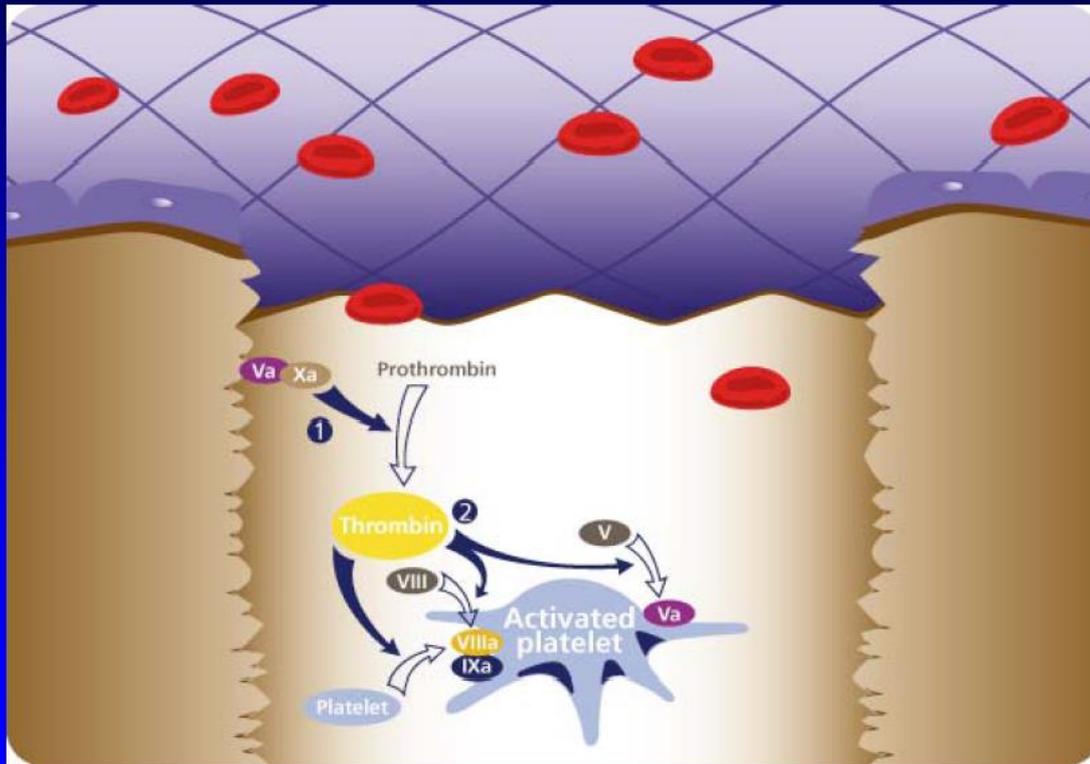
Hémostase primaire



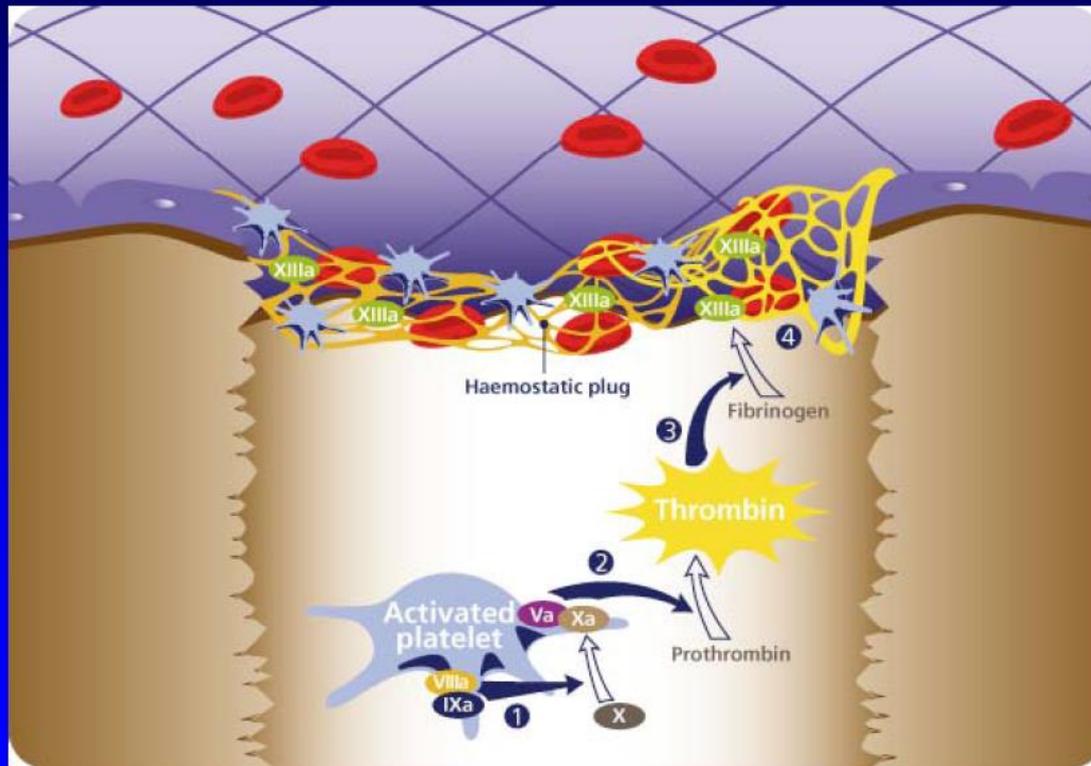
Hémostase primaire



Coagulation



Coagulation



1. HEMOSTASE PRIMAIRE

PLAQUETTES

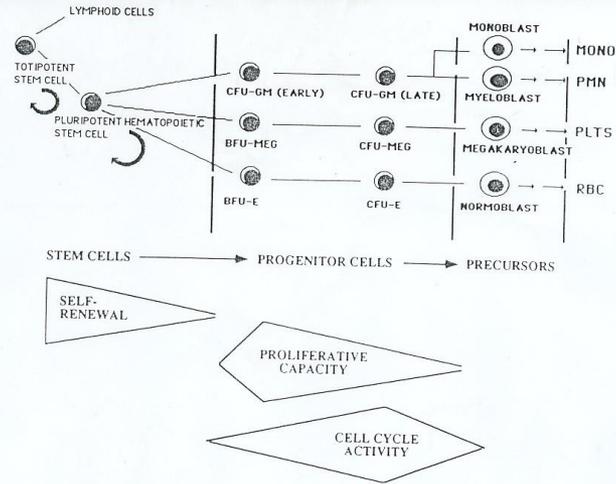


Figure I : Schéma de base de l'hématopoïèse médullaire

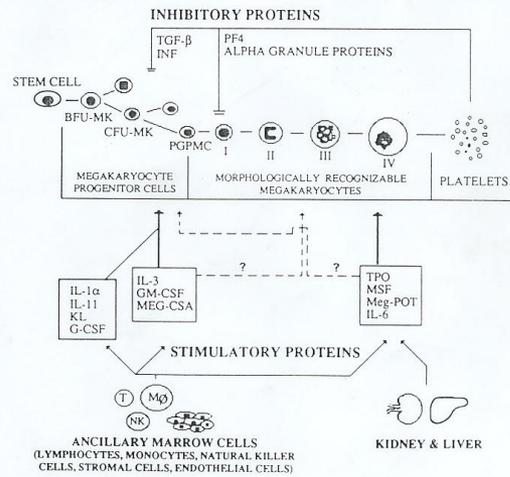
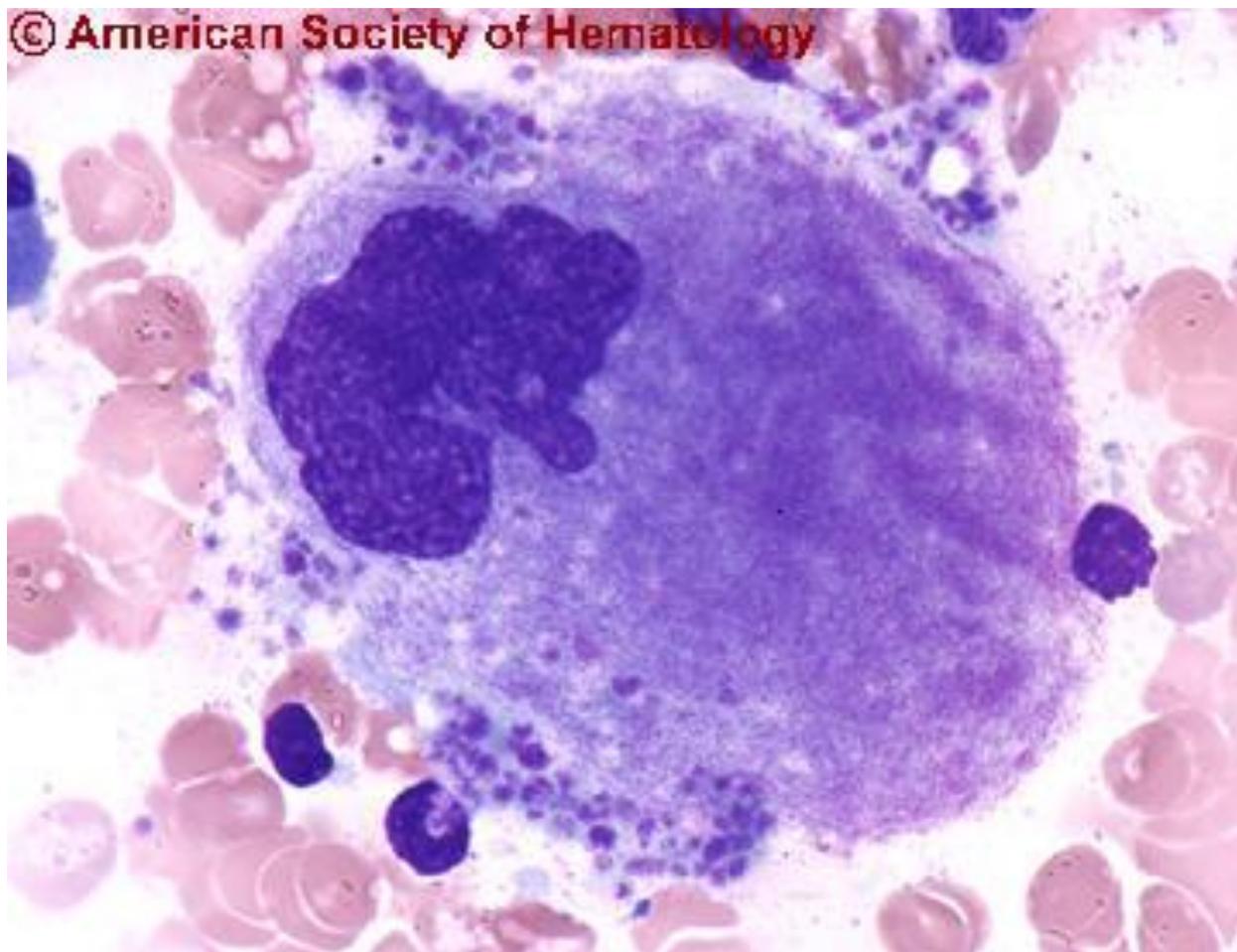
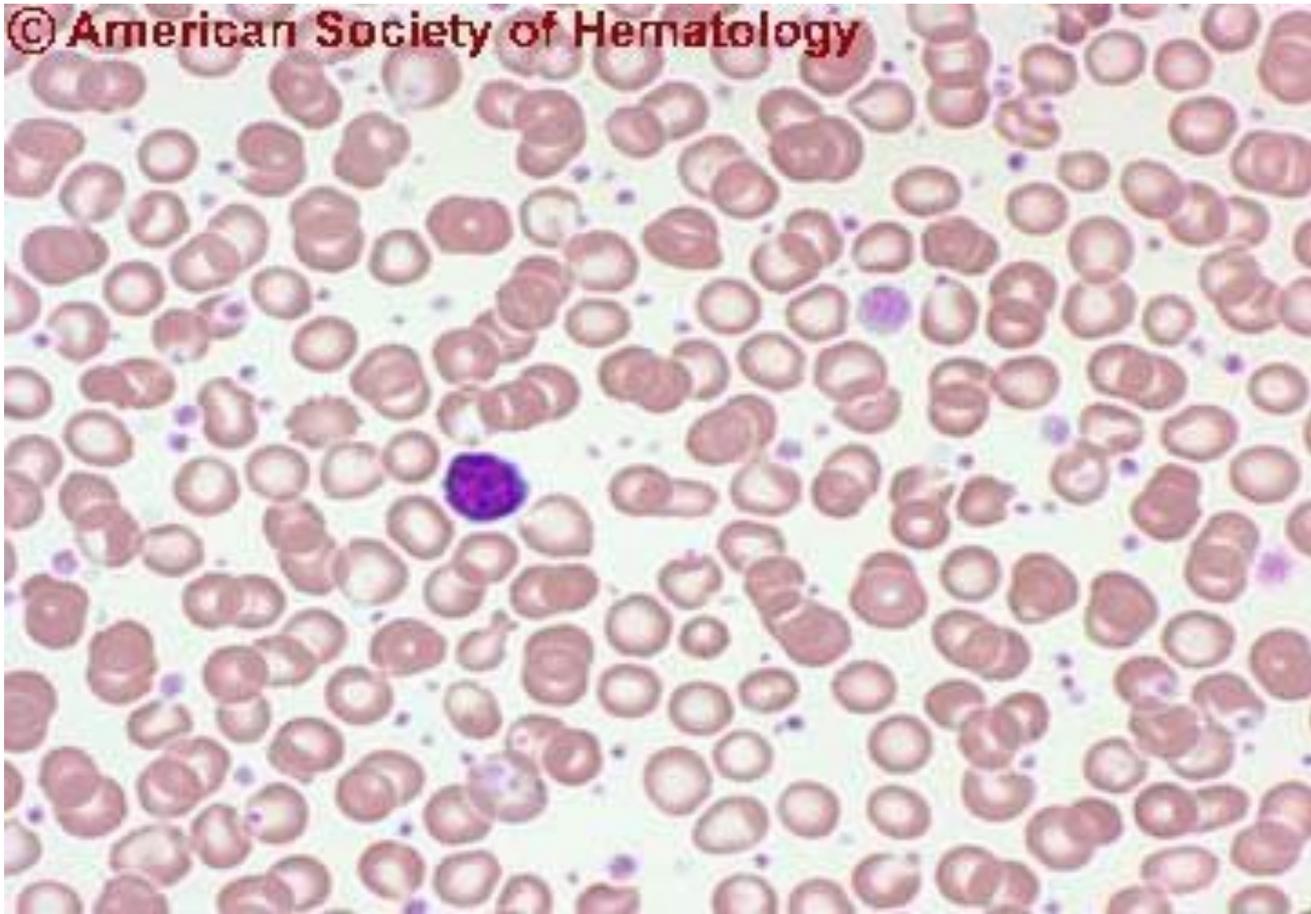


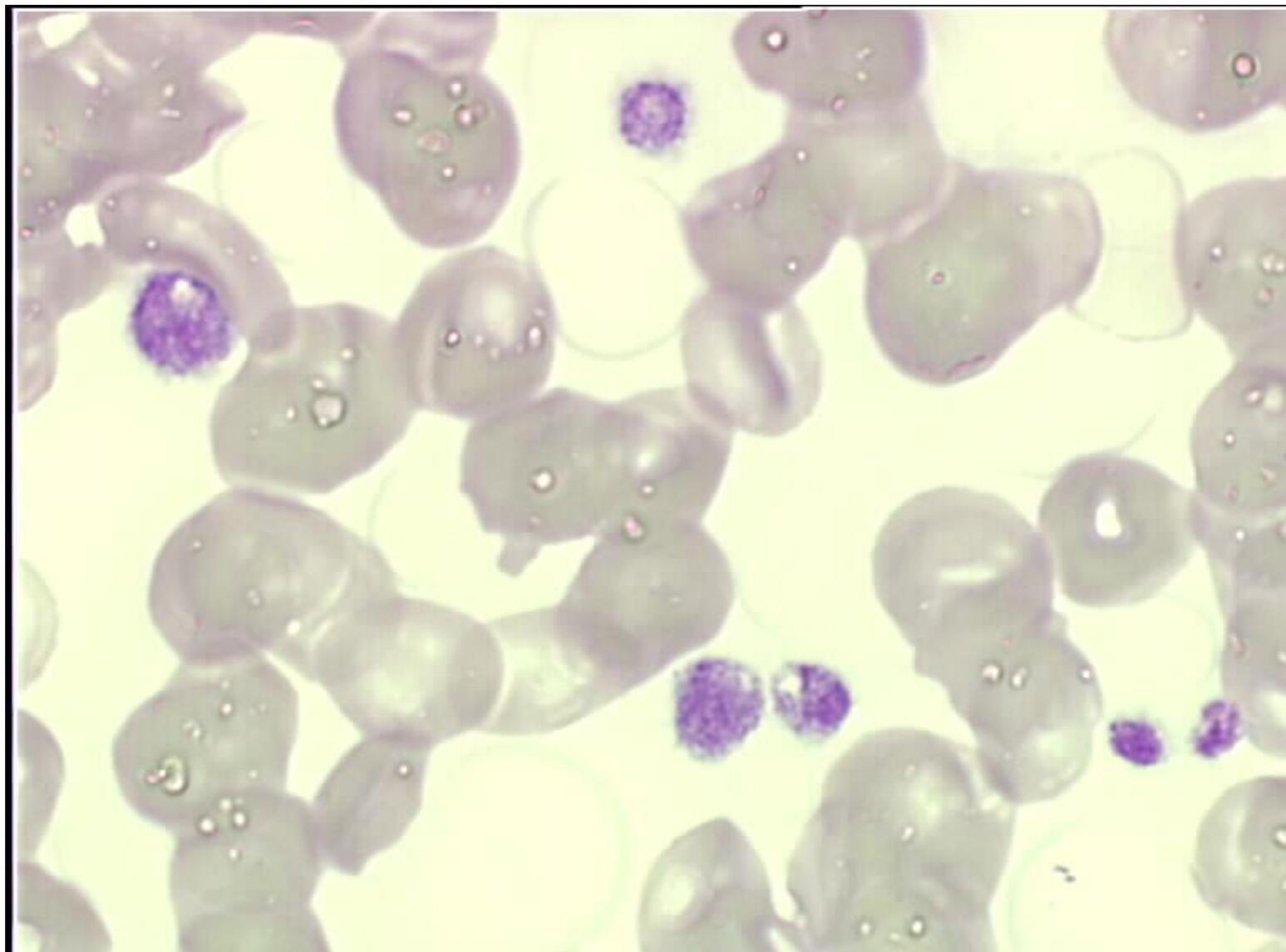
Figure II : La mégacaryocytopoïèse. Les différentes cellules et les protéines régulatrices

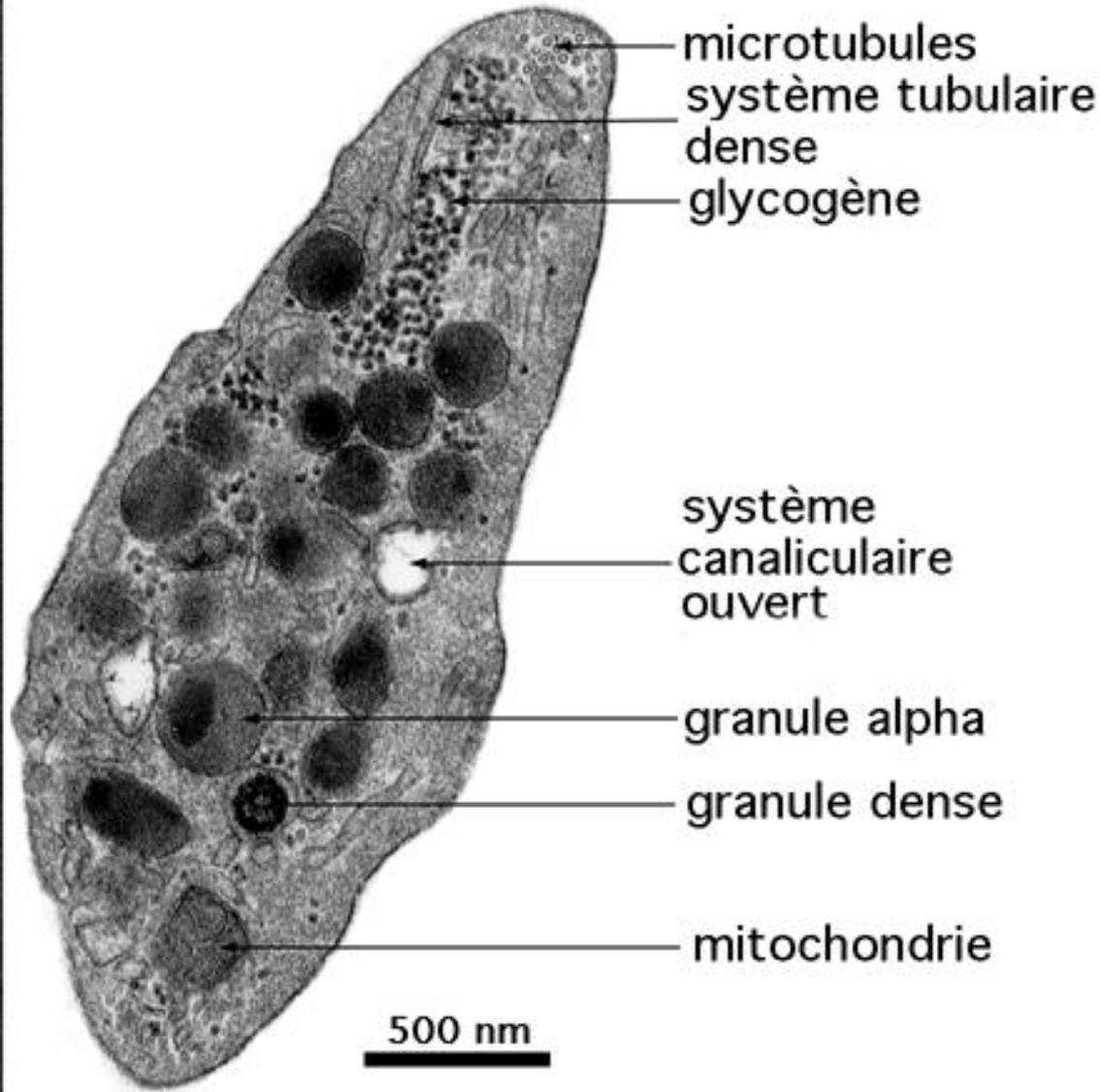
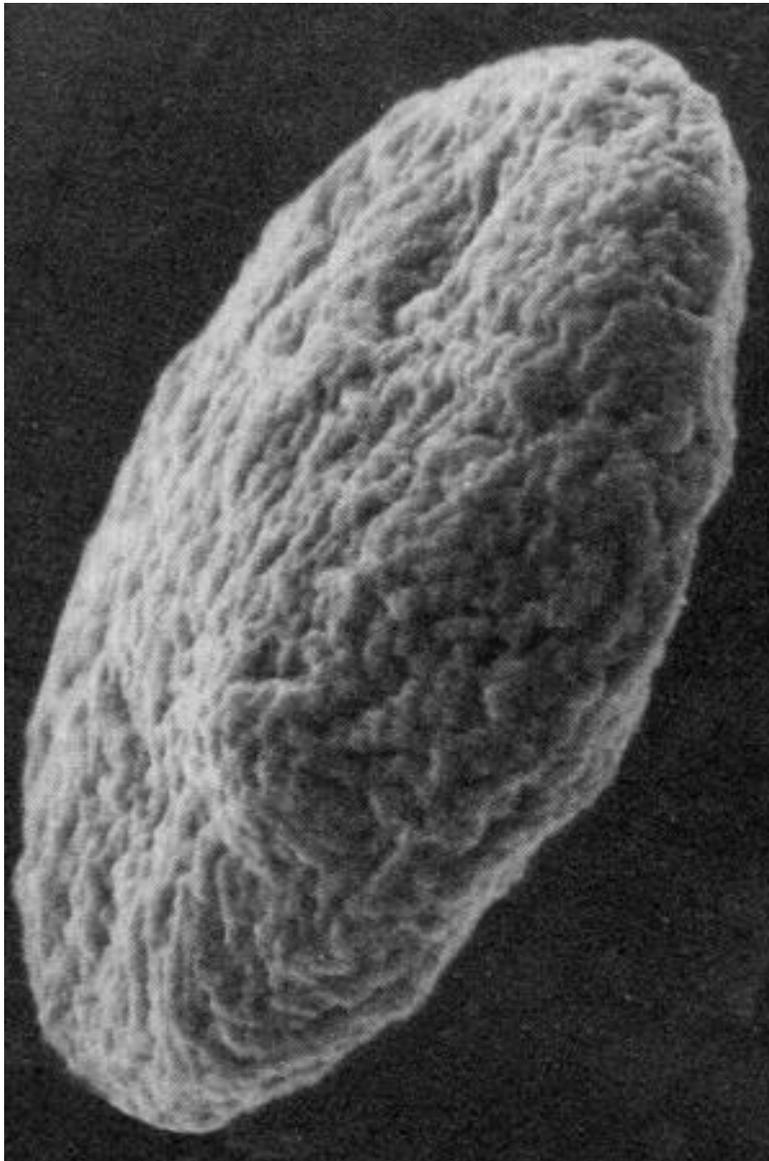
© American Society of Hematology



© American Society of Hematology







Platelet granules

- Dense granules: ATP, ADP, serotonin, calcium
- Alpha granules: Proteins
 - ◆ similar to plasma proteins (albumin, fibrinogen, factor V, vWF, high molecular weight kininogen)
 - ◆ platelet-specific: β -thromboglobulin, platelet factor-4, platelet-derived growth factor
- Lysosomal granules
 - ◆ acid hydrolases
 - ◆ contents secreted on platelet activation

Primary hemostasis

1. **adherence** to the margins of the lesion
2. **activation** in response to stimuli
3. **release** of granule contents
4. **aggregation** into a primary platelet plug

GP IV: thrombospondin and collagen receptor

GP IIb-IIIa: fibrinogen and vWF receptor

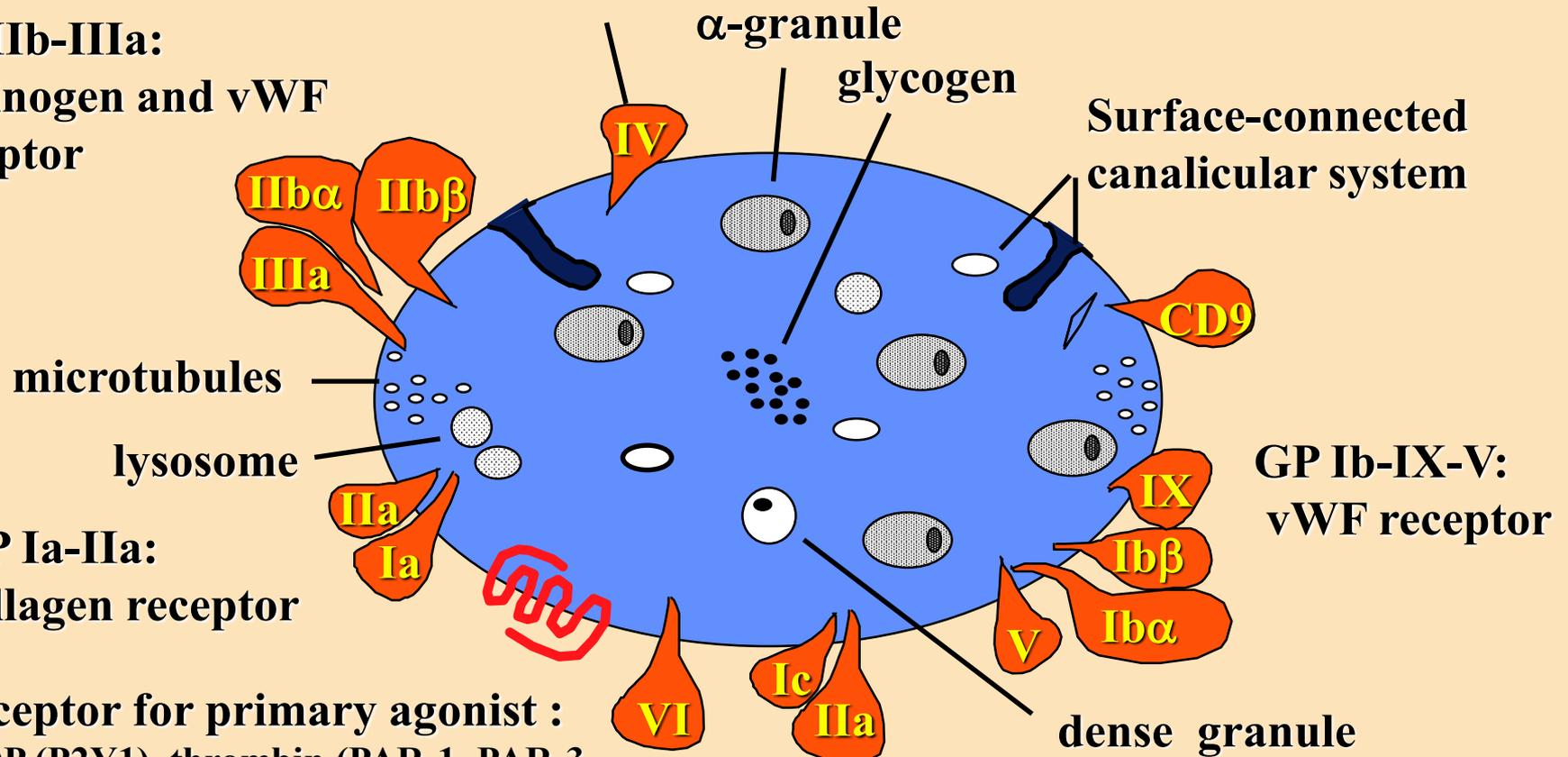
GP Ia-IIa: collagen receptor

**receptor for primary agonist :
ADP (P2Y1), thrombin (PAR-1, PAR-3, PAR-4)
epinephrine, 5-HT
thromboxane A2, PAF**

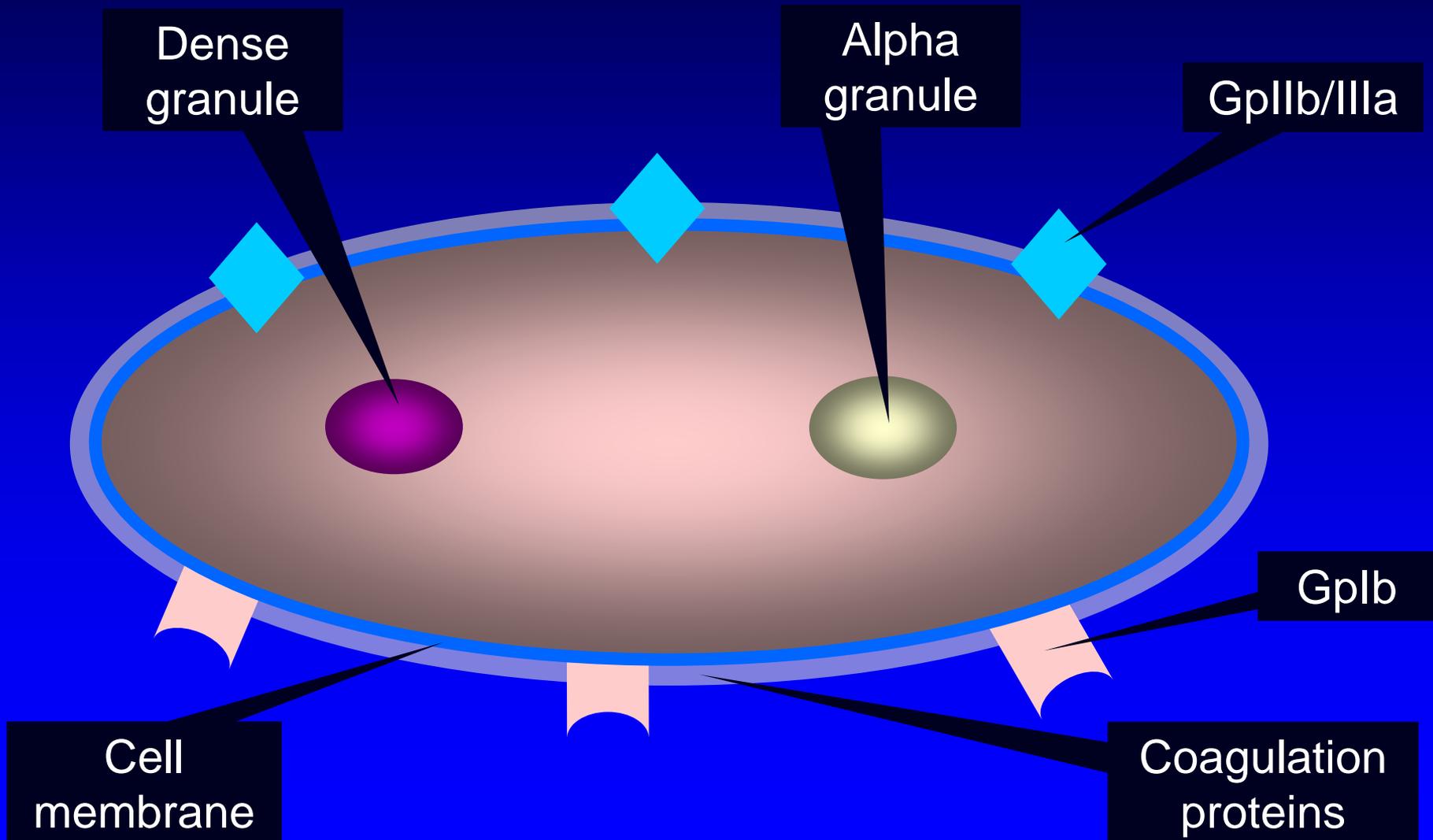
GP VI: collagen receptor

GP Ic-IIa: fibronectin receptor

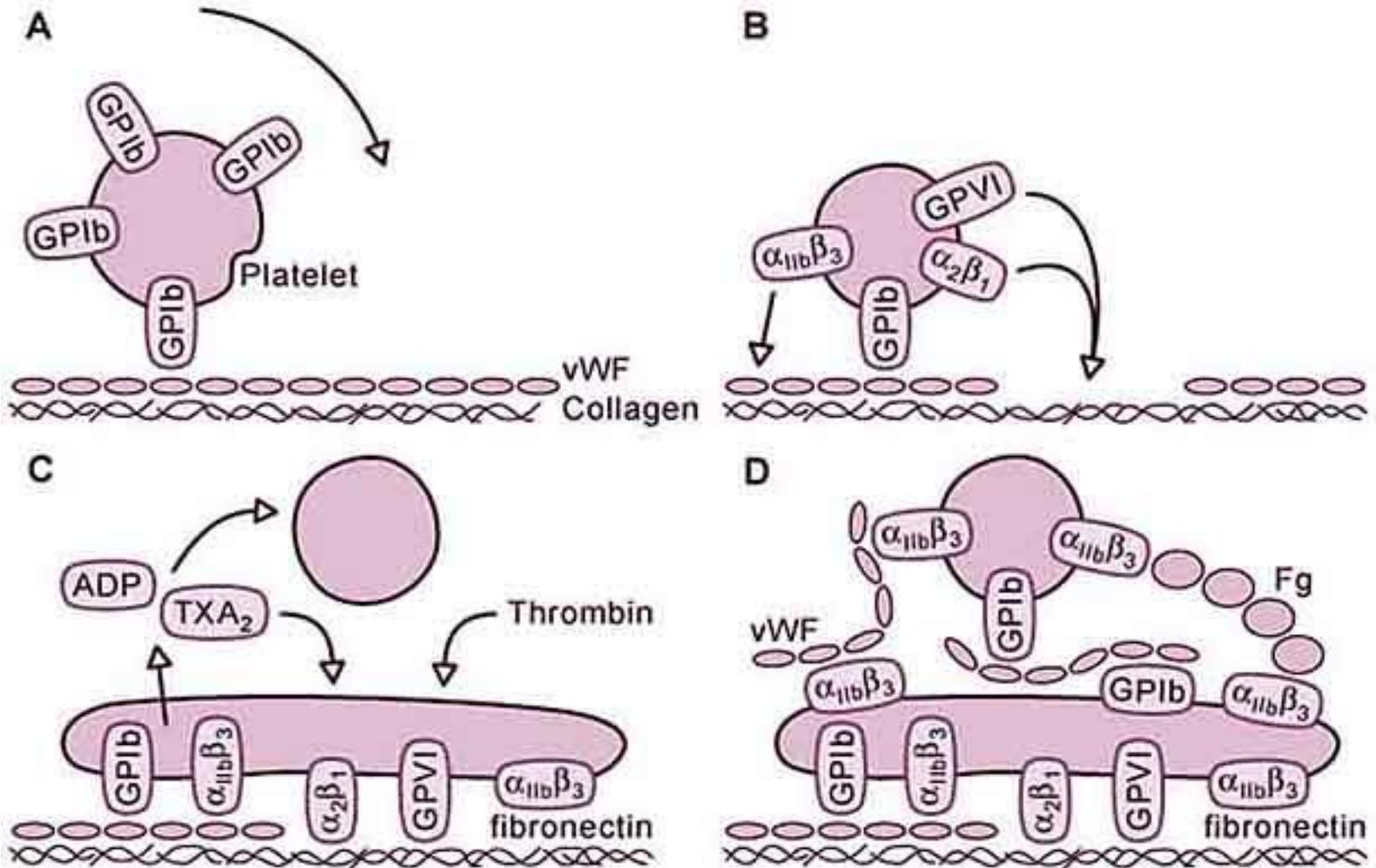
GP Ib-IX-V: vWF receptor



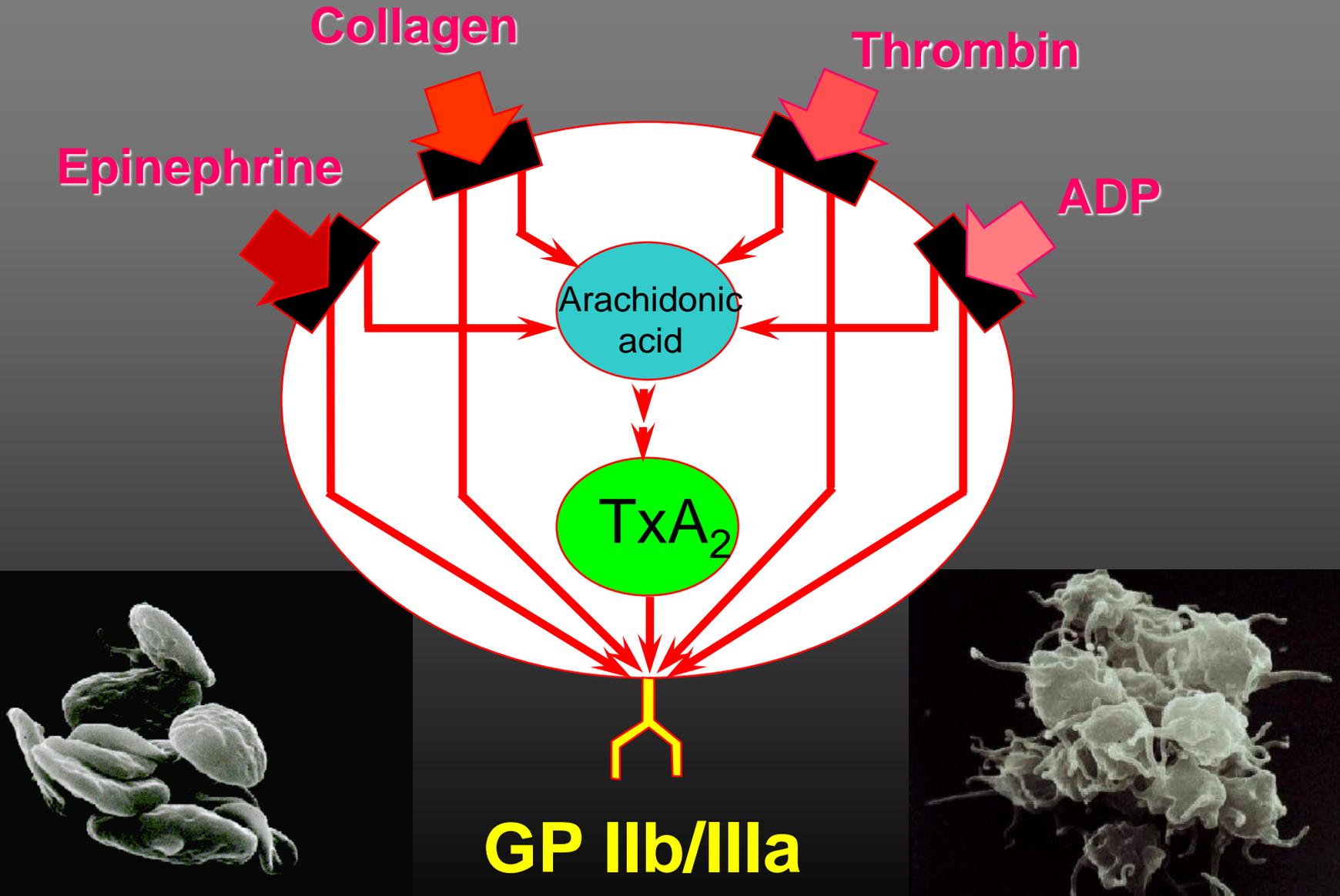
The platelet



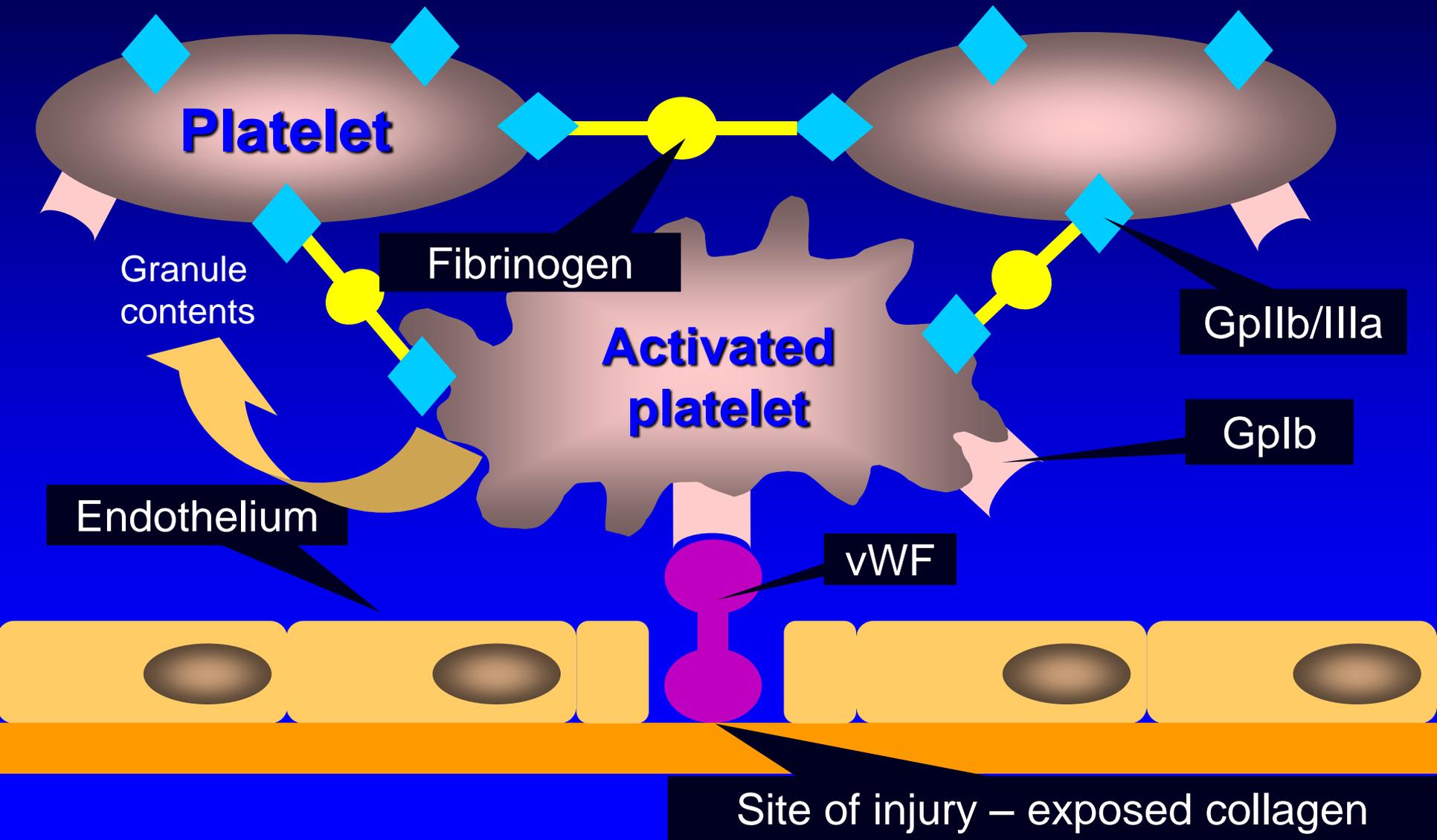
PLATELET ROLLING



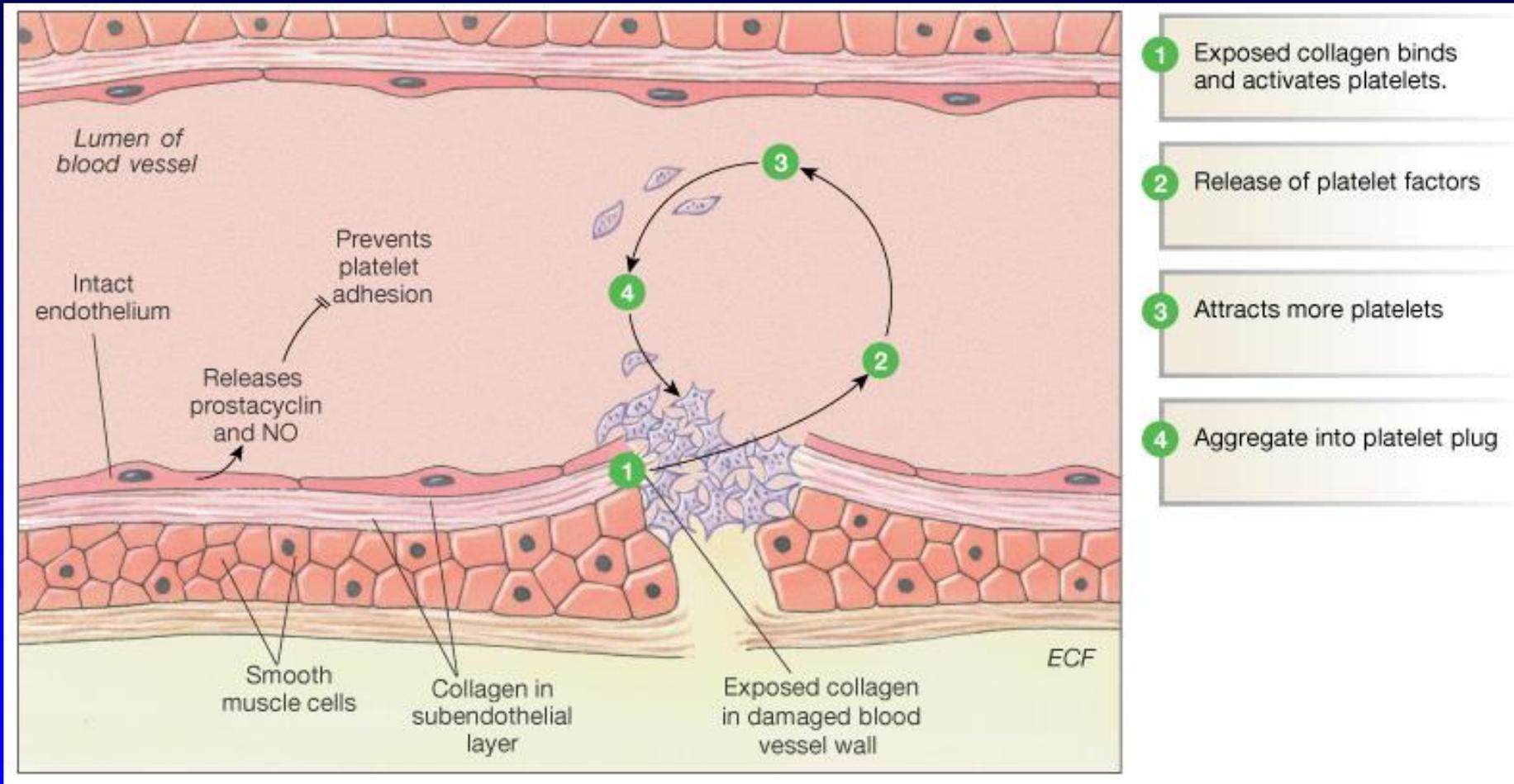
2. PLATELET ACTIVATION

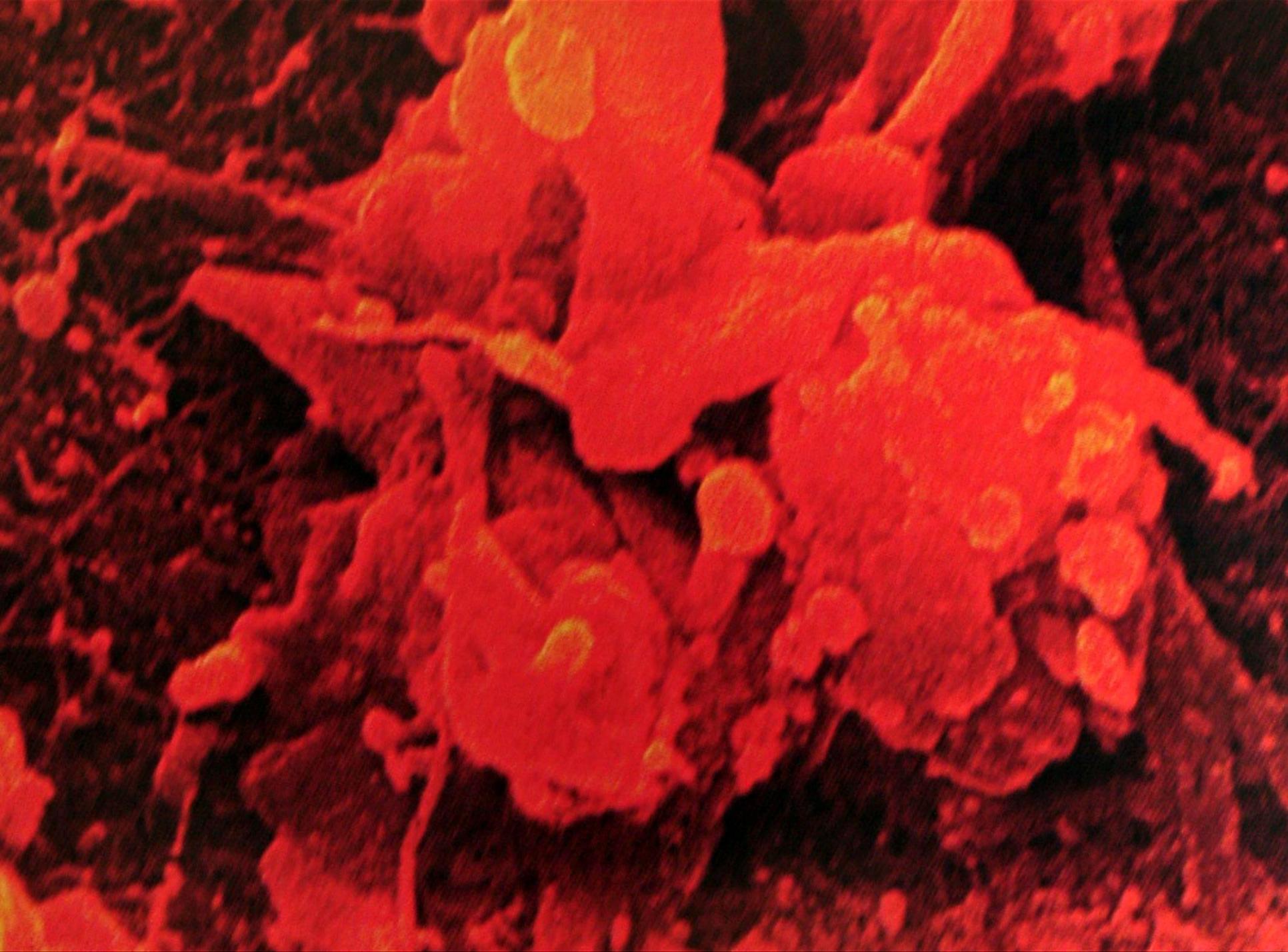


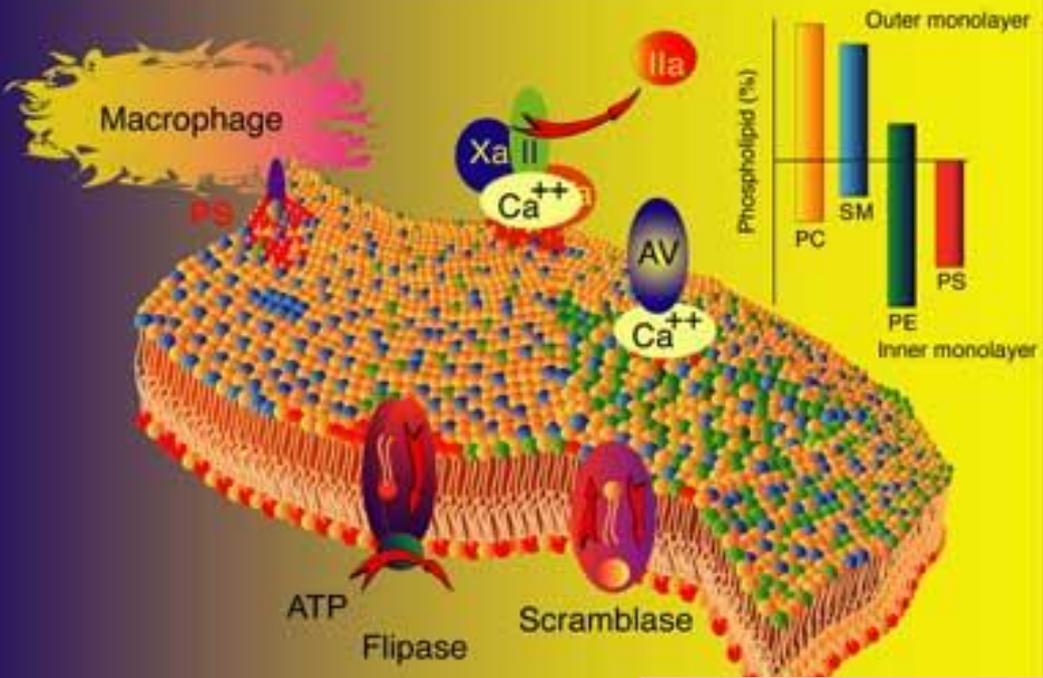
3. Platelet aggregation



Platelet plug formation

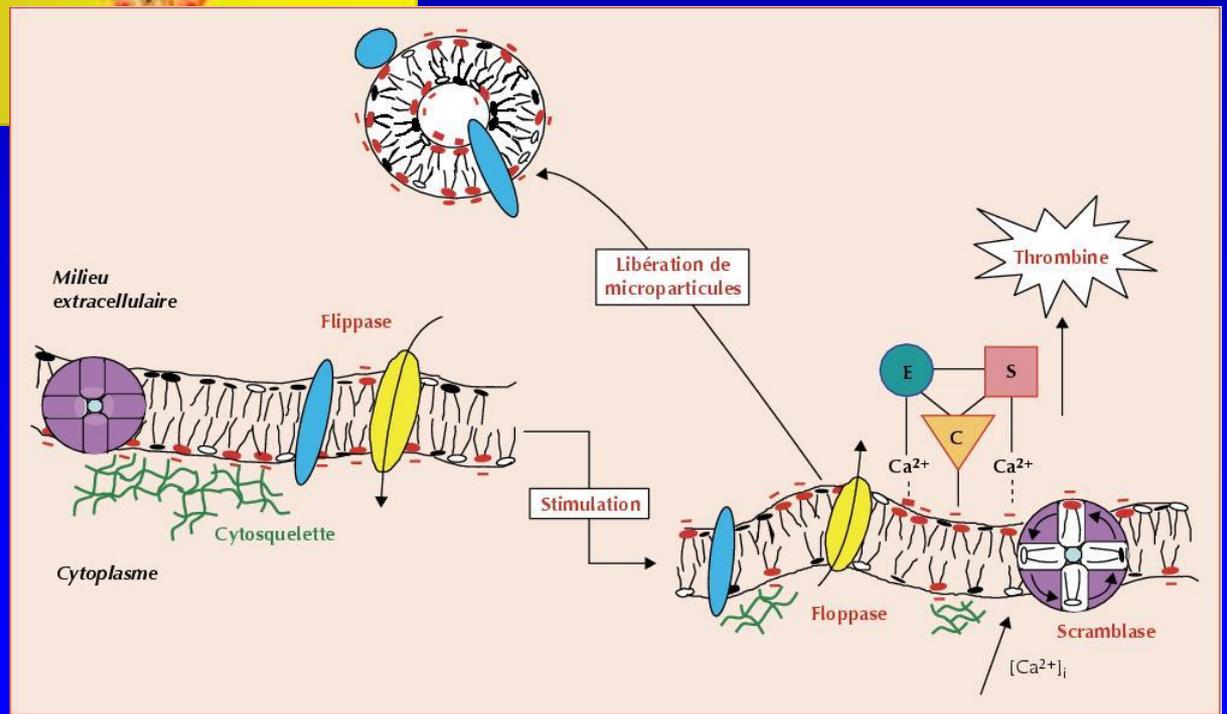






MEMBRANE FLIP-FLOP

PROCOAGULANT PHOSPHOLIPIDS



Summary of the role of platelets in hemostasis

- **Adhesion** of platelets to vascular subendothelium exposed by injury. von Willebrand factor (vWF) binds to GPIb on platelets
- **Aggregation** of platelets mediated by plasma fibrinogen binding to GPIIb-IIIa on platelets.
- **Release** of granule contents on platelet stimulation.
- **Platelet coagulant activities** contribute to the coagulation cascade. Activation of several coagulation proteins occurs on the platelet surface.

Exploration de l'hémostase primaire

Exploration de l'hémostase primaire

- La numération plaquettaire
- Le temps de saignement
 - In vivo
 - In vitro
- Étude des fonctions plaquettaires

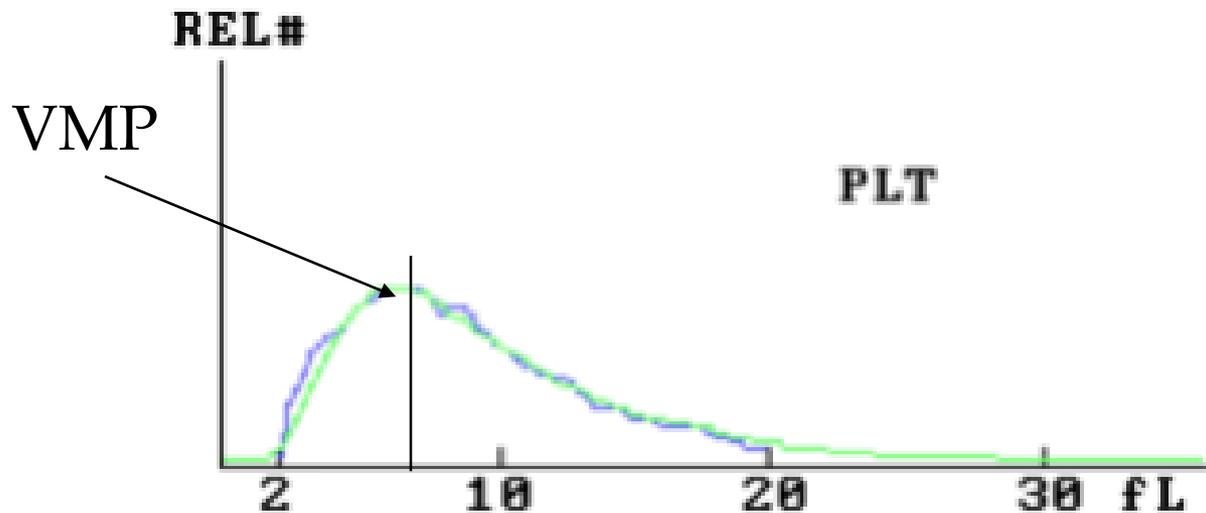
La numération plaquettaire

La numération plaquettaire

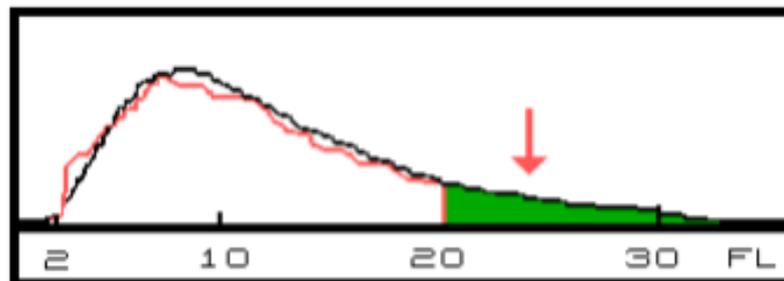
- **Normale = 150 - 400 G/L**
- **Prélèvement sur EDTA**
- **Techniques:**
 - **Techniques manuelles** → sang dilué au 1/100 dans de l'oxalate d'ammonium à 10g/L. Lecture dans la cellule de comptage (Malassez)
 - **Techniques semi-automatiques** → centrifugation du sang à 400xg pendant 4 min → plasma riche en plaquettes
 - **Techniques automatisées**

Numération des Plaquettes

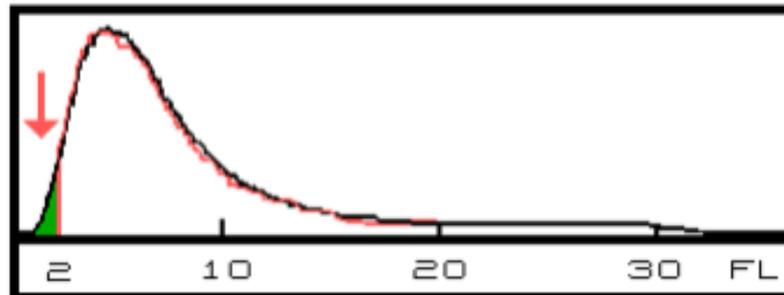
Histogramme des PLT et paramètres calculés



Grandes Plaquettes > 20 fl



Petites plaquettes, débris ? < 2 fl



Les causes d'erreurs de la numération plaquettaire

- **Fausse thrombopénie par agrégation des plaquettes en présence d'EDTA**
- **Autres causes d'erreurs par défaut:**
 - Après contact avec des surfaces qui activent les plaquettes
 - Présence de plaquettes géantes
 - Satellitisme des plaquettes sur les polynucléaires

Les thrombopénies

- **Centrales**
 - Déficits qualitatifs
 - Déficits quantitatifs
- **Périphériques**
 - Immune
 - Par consommation
 - Par dilution
- **Trouble de la répartition** : hypersplénisme

Les thrombopénies centrales

- Primitives constitutionnelles
 - May-Hegglin
 - Bernard Soulier
 - Wiskott Aldrich
 - Fanconi
- Déficits quantitatifs
 - Envahissement médullaire
 - Toxique
 - Infections virales
 - Alcoolisme
 - Carence vitaminique

Les thrombopénies périphériques

- Immunes

- ❖ Auto-immunes

- **Primitive** : PTI

- **Secondaire** : vascularite, LEAD, néoplasies, infection...

- ❖ Allo-immunes

- Post-transfusionnelles

- néo-natales

- ❖ Immunoallergiques

Les thrombopénies périphériques

- **Par consommation**

- MicroAngiopathies Thrombotiques (MAT)
- CIVD
- HELLP syndrome
- Rétrécissement valvulaire

- **Par dilution**

- Transfusions massives

Le temps de saignement

Le temps de saignement

- **Techniques utilisées**

- Technique de DUKE (plus utilisée)
- Ivy 3 points
- Ivy incision

- **Avantages**

- Explore les fonctions vasculaires et plaquettaires
- Immédiat et in vivo

- **Limites**

- Peu sensible et opérateur dépendant
- Pas prédictif du risque hémorragique



Le temps de saignement

• Causes d'allongement

- Blessure d'un vaisseau sous-cutané
- Prise récente d'antiagrégants (aspirine, thiénoopyridines)
- Malade sous anticoagulant à forte dose
- Insuffisance hépatique ou rénale
- Thrombopénie: normale quand les plaquettes > 100 G/L .
Très allongé au dessous de 50 G/L
- Thrombopathie type Glanzmann ou Bernard Soulier
- Maladie de Willebrand
- Afibrinogénémié
- Anomalie du vaisseau
- Anémie sévère

Le temps de saignement

- Un TS normal n'exclut
ni l'existence d'une anomalie
fonctionnelle plaquettaire
d'expression clinique modeste
ni une maladie de Willebrand

Thrombopathies

Thrombopathies

- Perturbation possible de l'adhésion, sécrétion, activation, agrégation, activité procoagulante des plaquettes

→ **Syndrome hémorragique**

- **Thrombopathies**

- Acquises (les plus fréquentes)
- héréditaires

Thrombopathies acquises

- **Thrombopathies médicamenteuses :**
salicylés, AINS, sulfinpyrazone,
clofibrate, dipyridamole, ticlopidine...
- **Thrombopathies au cours de :**
 - Syndromes myéloprolifératifs
 - Myélodysplasies
 - Insuffisance rénale

Thrombopathies héréditaires

- **Anomalie d'une glycoprotéine membranaire**
 - Thrombopathie de [Bernard Soulier](#)
 - Thrombasthénie de [Glanzmann](#)
- **Anomalie des granules plaquettaires**
 - Dense ou alpha (exceptionnelle)
- **Anomalies métaboliques**
 - Déficit en cyclooxygénase ou thromboxane synthétase
 - Sd hémorragique modéré
 - Anomalie des flux calciques intraplaquettaires

Étude des fonctions plaquettaires

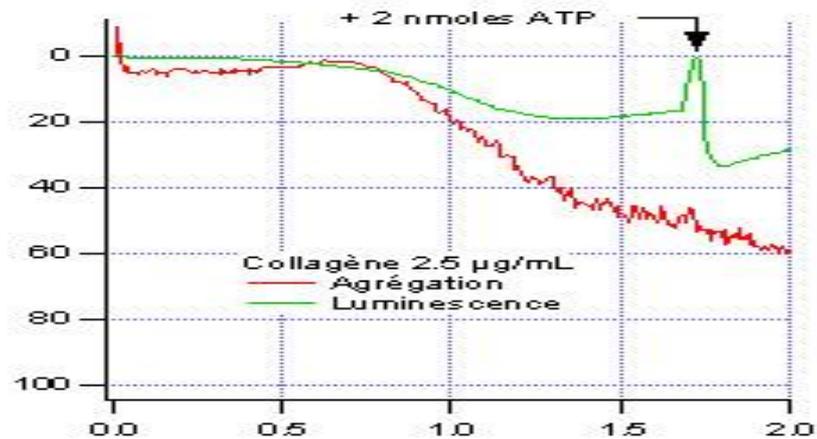
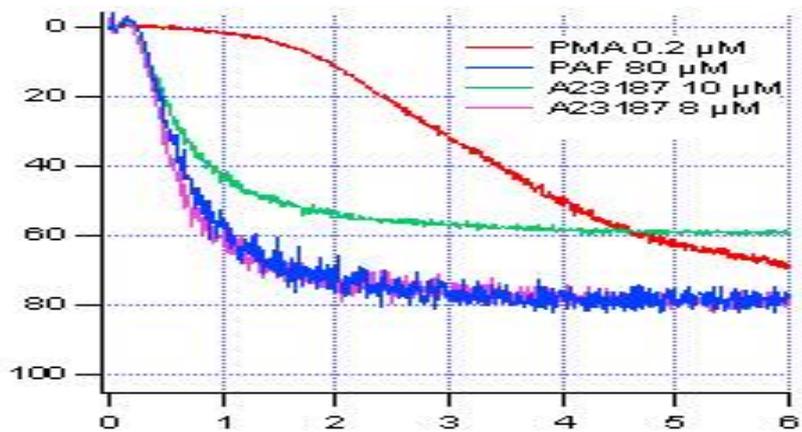
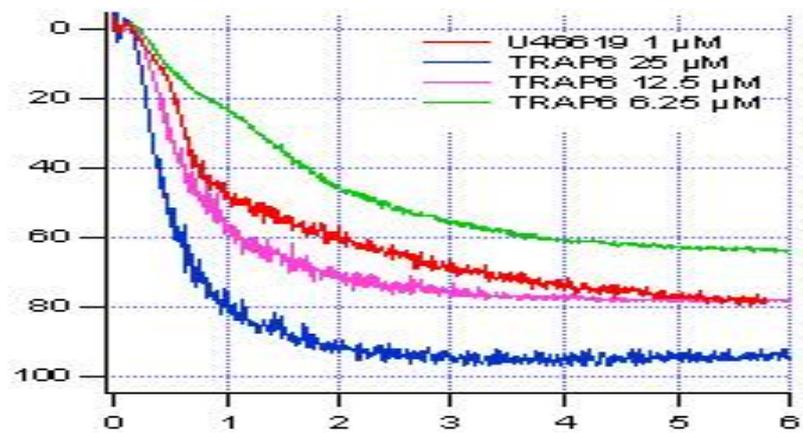
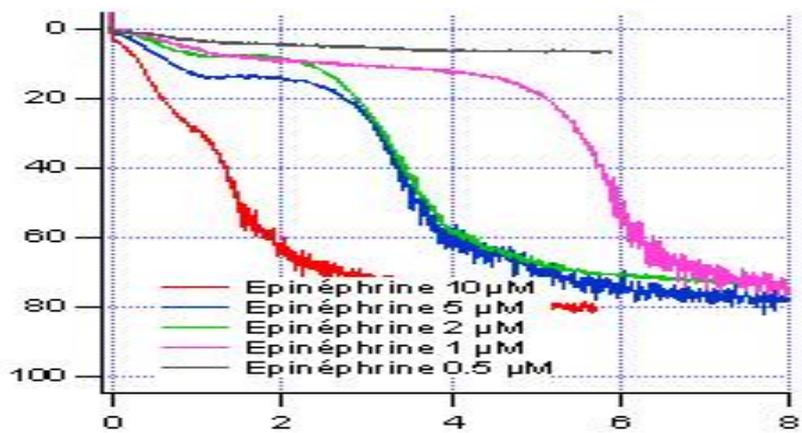
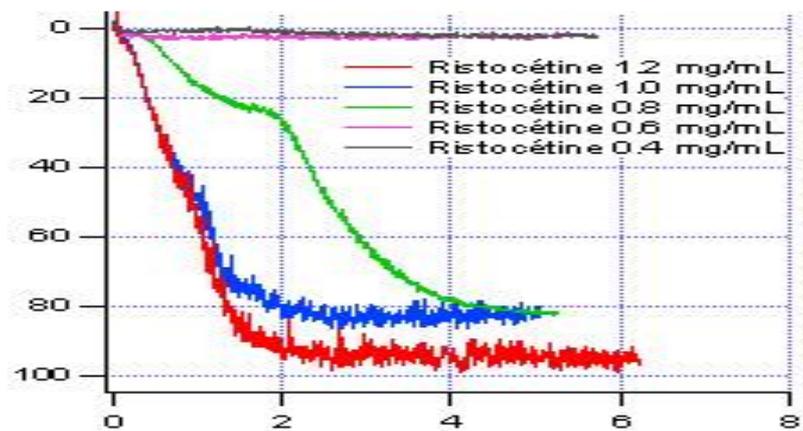
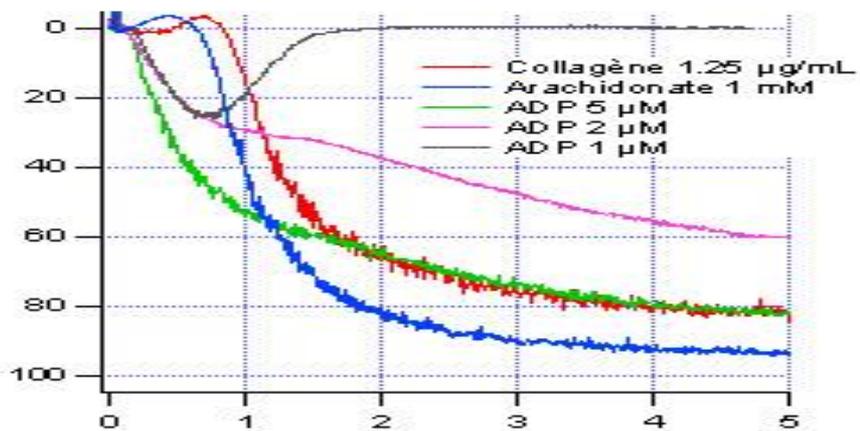
Mesure de l'agrégation plaquettaire in vitro : AGREGAMETRE

- Mesure de l'agrégation plaquettaire d'un PRP par turbidimétrie dans un agrégamètre (fixation du fibrinogène sur GPIIb-IIIa)
- Avant tout, exclure une thrombopathie induite par un médicament :
 - Aspirine et AINS
 - Ticlopidine et Clopidogrel
 - Corticostéroïdes
 - Pénicillines et bêta lactamines...

Mesure de l'agrégation plaquettaire in vitro

● Principe :

- Etude de l'agrégation d'un PRP (300 G/L) avec différents inducteurs (ADP, Collagène, Ristocétine, Arachidonate de Na, Epinéphrine, PAF acéther, TRAP-6, PMA...)
- Mesure en continu de l'augmentation de la transmission optique causée par la formation des agrégats → % d'agrégation
- Étalonnage : 0% = PRP et 100 % = PPP
- Si > 8% : agrégation plaquettaire
- Expression en fonction du temps et du % d'agrégation



Cytométrie de flux

- **Avantages**

- Rapide
- Petit volume de sang → adapté au prélèvement pédiatrique
- Applicable même si plaquettes <100G/L

- **Inconvénient**

- Nécessité d'équipement onéreux

- **Principe**

- Anticorps anti-GP plaquettaires au repos ou après activation

Autres techniques d'exploration

- Etude des granules par microscopie électronique
- Etude de la sécrétion plaquettaire
- Etude du métabolisme
 - Des prostaglandines
 - de l'AMPc
 - Du Ca^{++} intra-plaquettaire
- Etude du facteur Willebrand intra-plaquettaire

INTERROGATOIRE

Histoire clinique
Prise médicamenteuse
Groupe sanguin

NUMERATION PLAQUETTAIRE

> 150 G/L

Normal

< 150 G/L

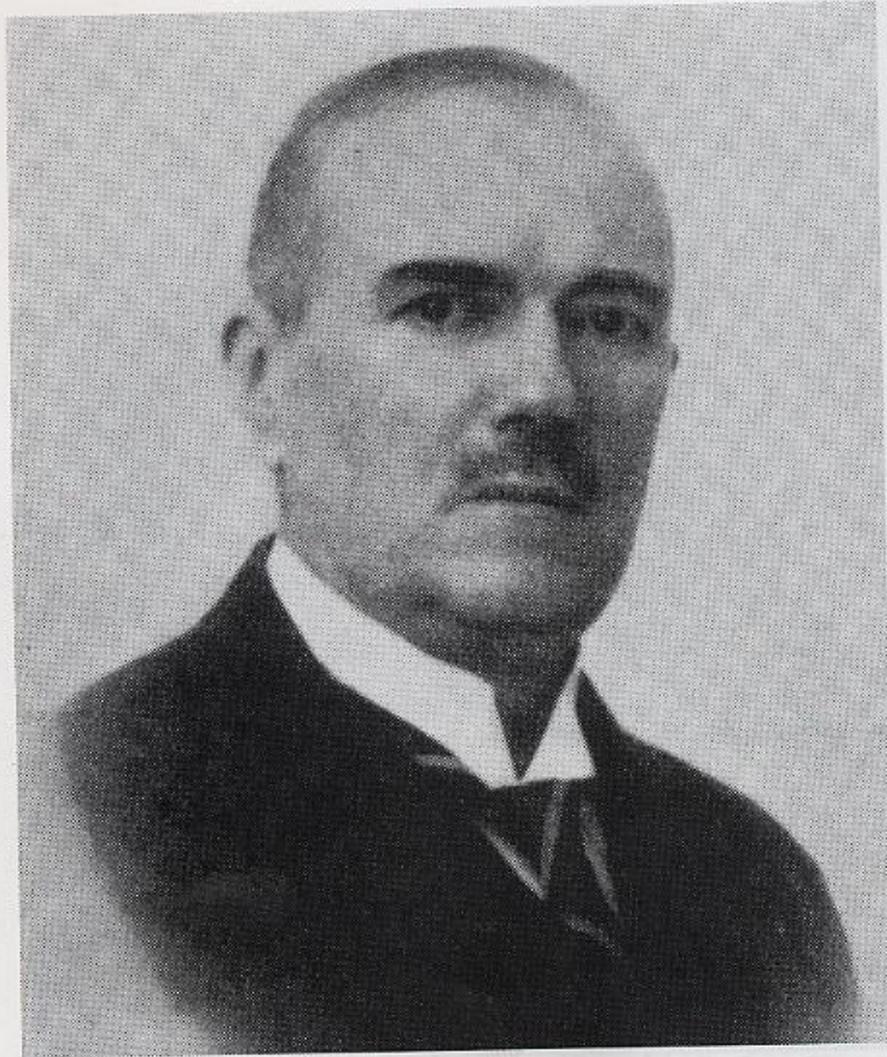
Thrombopénie
A vérifier sur frottis

Hémostase primaire
normale
ou **thrombopathie**
ou **maladie de**
Willebrand

vWF : RCo

Diminué
Maladie de
Willebrand

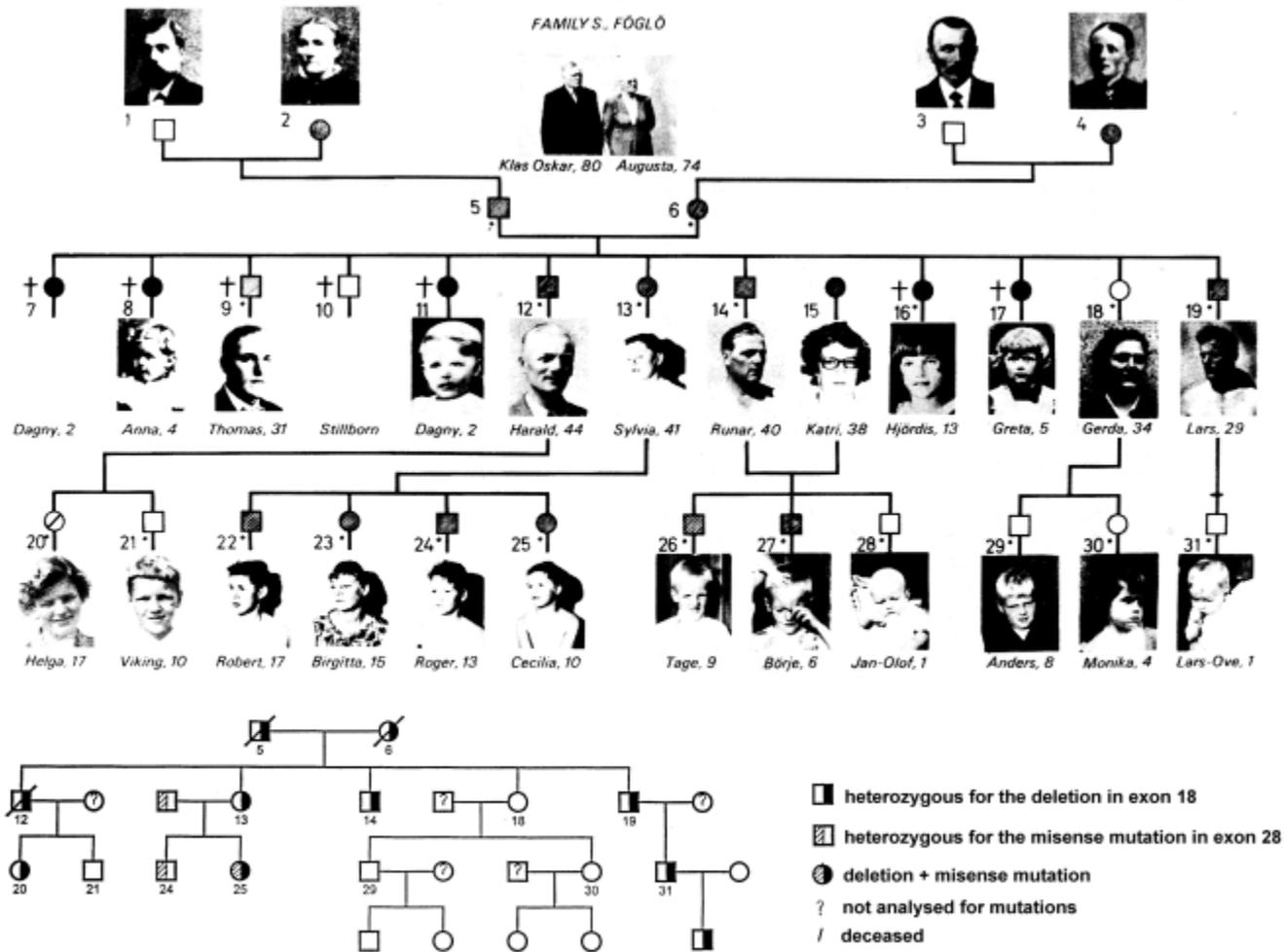
Normal
agrégamétrie
et/ou CMF
thrombopathie

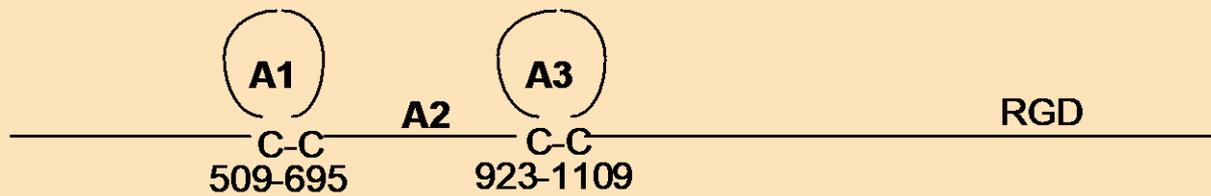
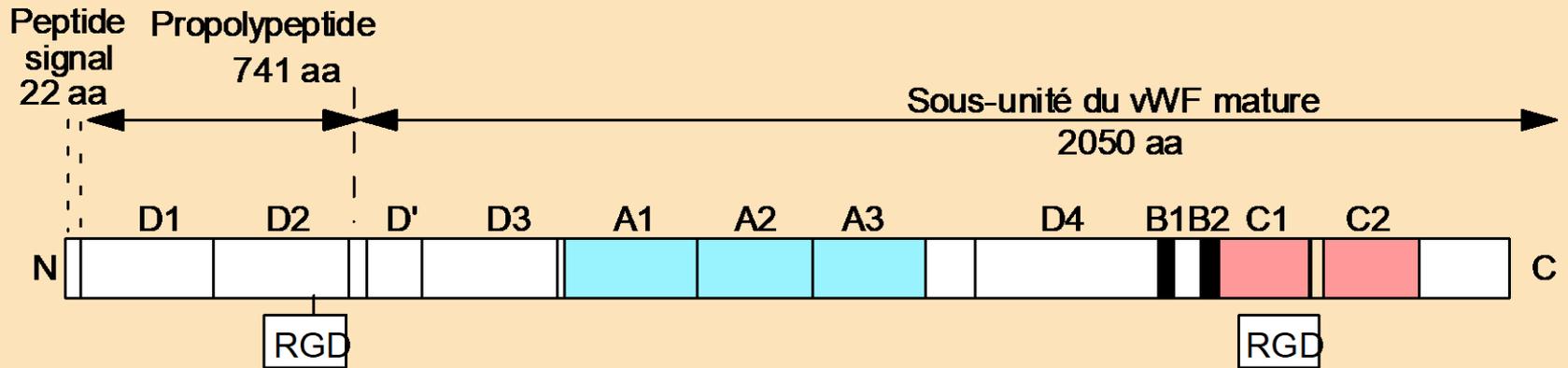


Erik A. von Willebrand (1870-1949)

Aland Islands







Collagen	542-622	■	948-998	■
Heparin	■ 1-272	■	565-587	
Sulfatides	569-584	■ ■	628-645	
GPIb/IX	474-488	■ ■	514-542	■ 694-708
GPIIb/IIIa			1744-1746	■
F.VIII	■ 1-272			

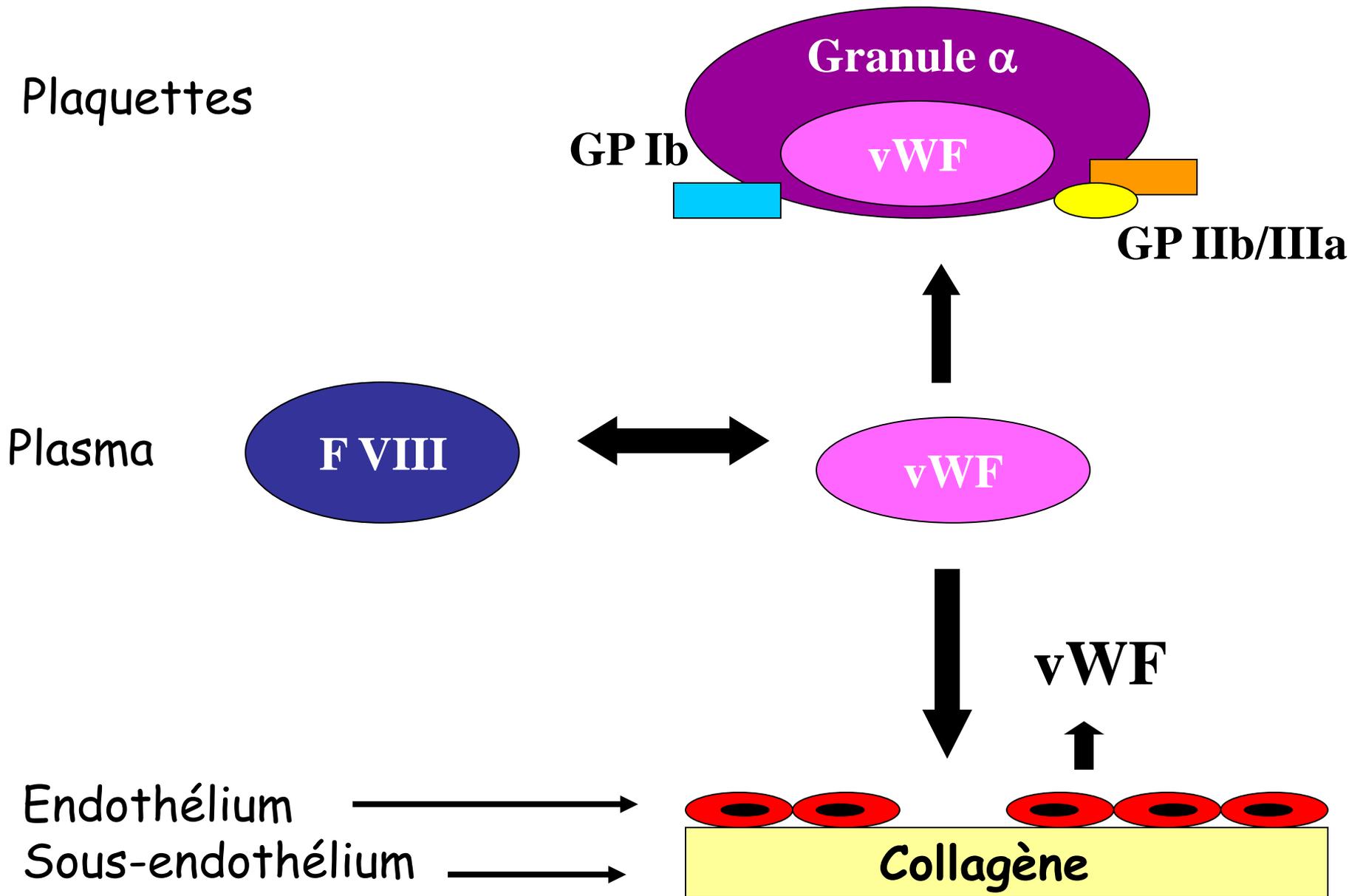
Interactions of von Willebrand factor

La Maladie de Willebrand

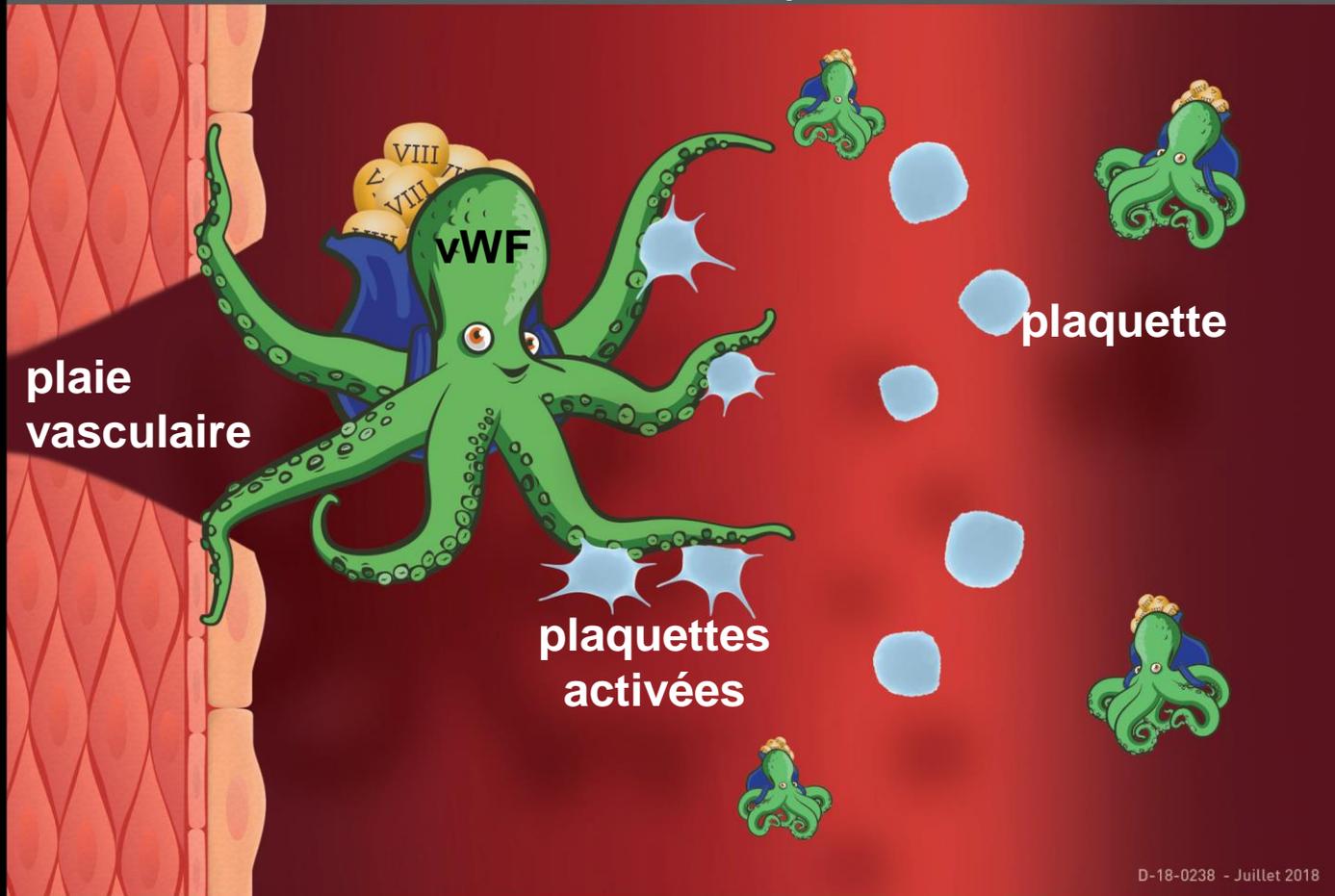
- La plus fréquente des maladies hémorragiques constitutionnelles: prévalence variant entre 23 et 113 /million

Type 1	70-80 %	déficit quantitatif partiel
Type 3	5-10 %	déficit quantitatif total
Type 2	7-30 %	défaut qualitatif
2A	30 %	. défaut des formes lourdes
2B	28 %	. augmentation de l'affinité
2M	8 %	. diminution de l'affinité sans perte des formes lourdes
2N	34 %	. diminution de l'affinité pour le FVIII

ROLE BIOLOGIQUE DU vWF

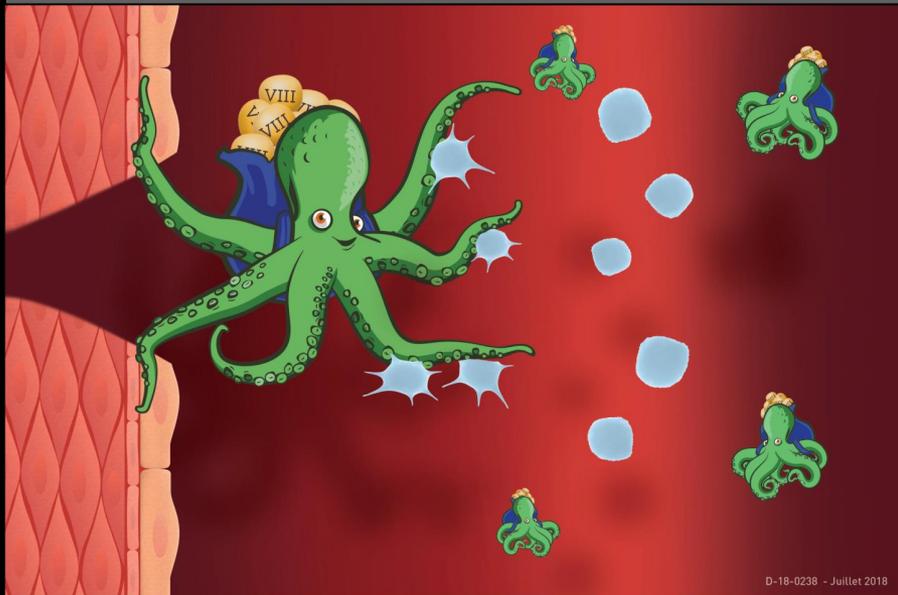


Facteur Willebrand (VWF) : son rôle dans la coagulation et dans l'hémostase primaire.

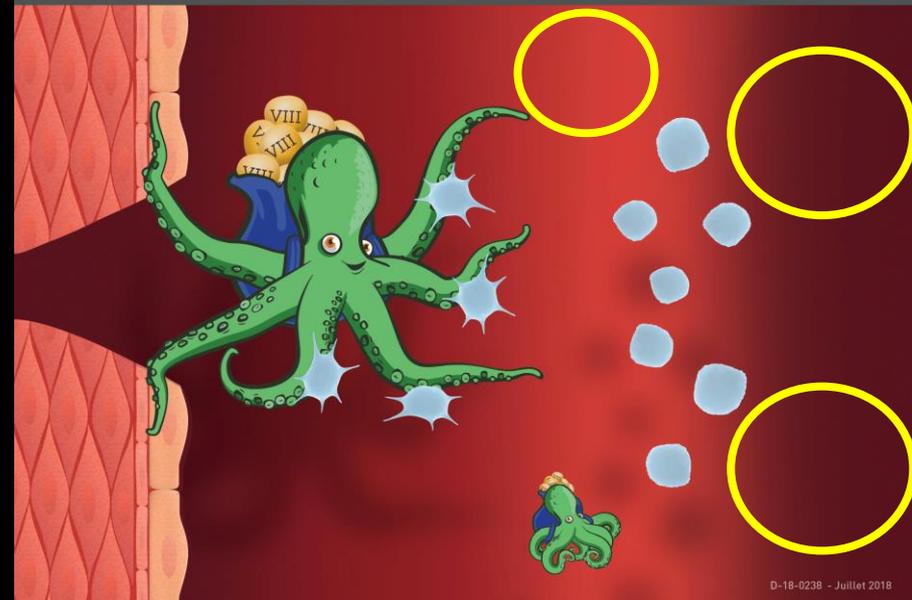


Classification de la Maladie de Willebrand

vWF Normal



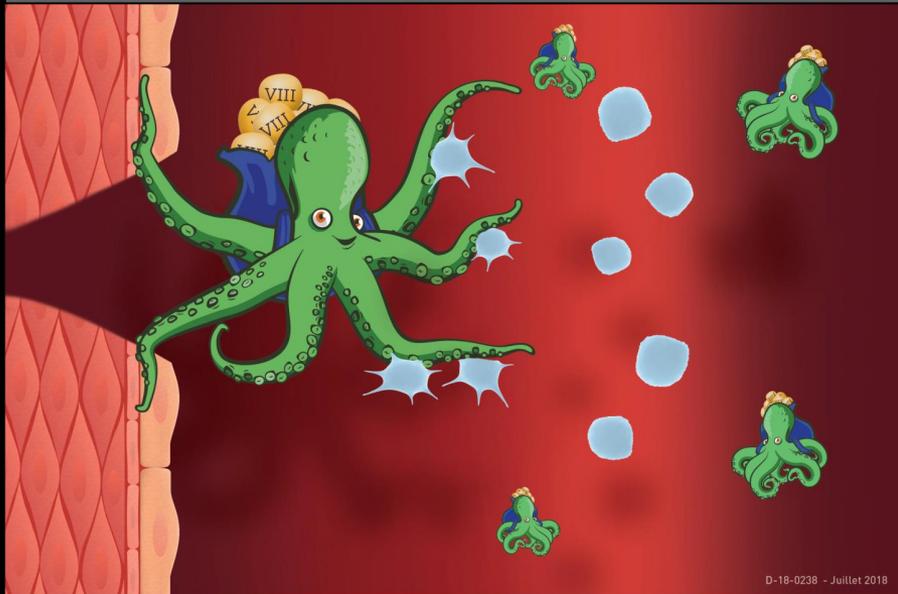
VWD : DÉFICIT QUANTITATIF (TYPE 1)



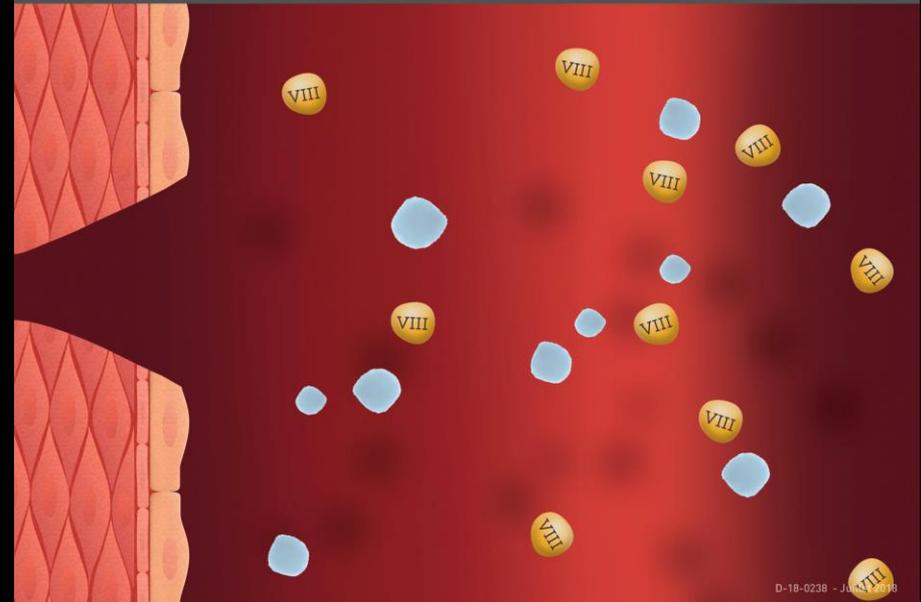
Maladie de Willebrand Type 1:
Déficit quantitatif partiel en VWF

Classification de la Maladie de Willebrand

vWF Normal



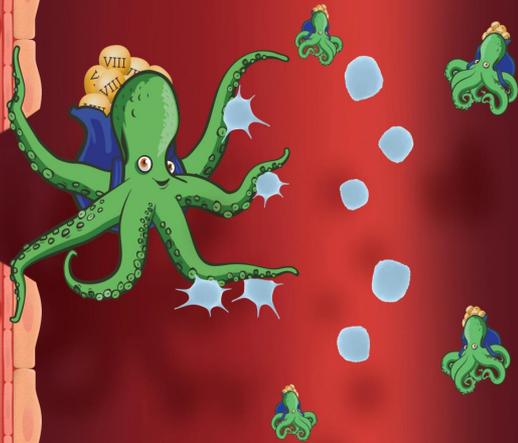
VWD : DÉFICIT QUANTITATIF (TYPE 3)



Maladie de Willebrand Type 3:
Déficit quantitatif TOTAL en VWF

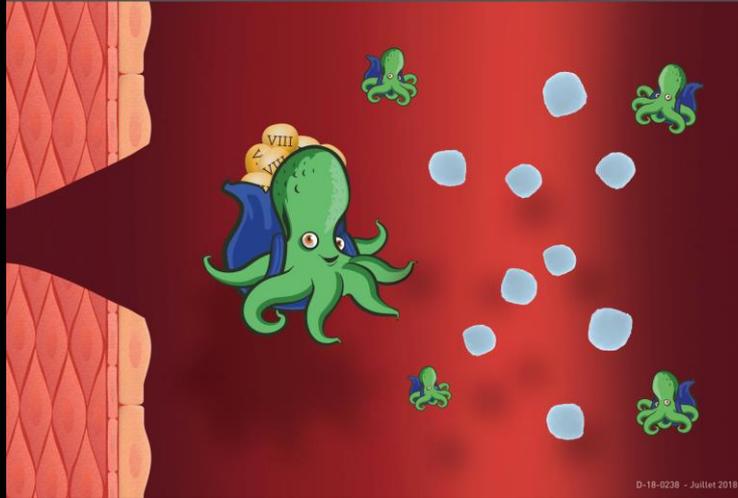
Classification de la Maladie de Willebrand

vWF Normal



D-18-0238 - Juillet 2018

VWD : DÉFICITS QUALITATIFS : 2A



D-18-0238 - Juillet 2018

VWD : DÉFICITS QUALITATIFS : 2B



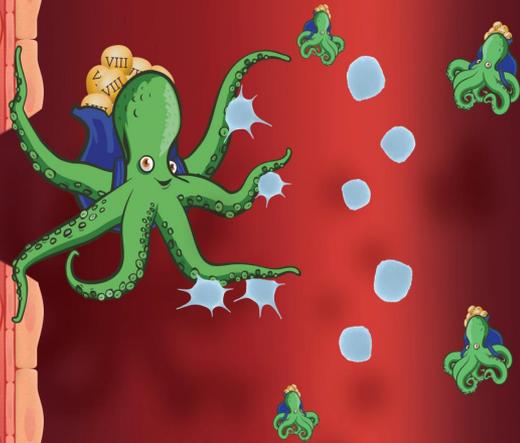
D-18-0238 - Juillet 2018

Willebrand Type 2A
Déficit fonctionnel en VWF (diminution des interactions entre vWF et plaquettes)
diminution des multimères de haut poids moléculaire

Willebrand Type 2B
Déficit fonctionnel en VWF (affinité du vWF pour les plaquettes augmentée)
NB: responsable de thrombopénie secondaire

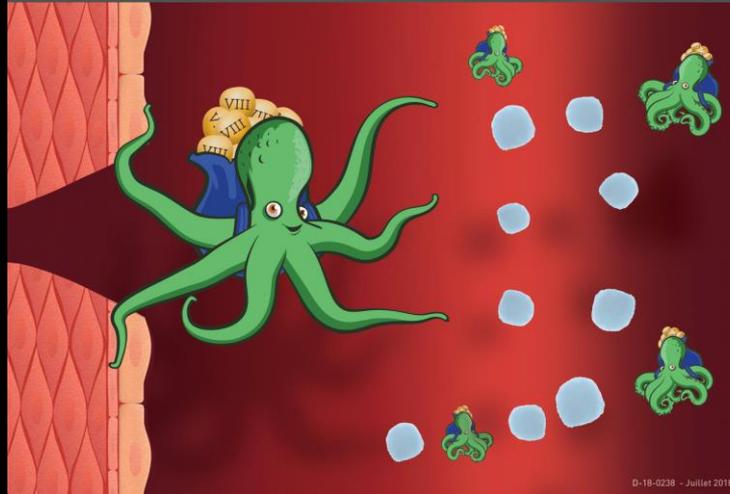
Classification de la Maladie de Willebrand

vWF Normal



D-18-0238 - Juillet 2018

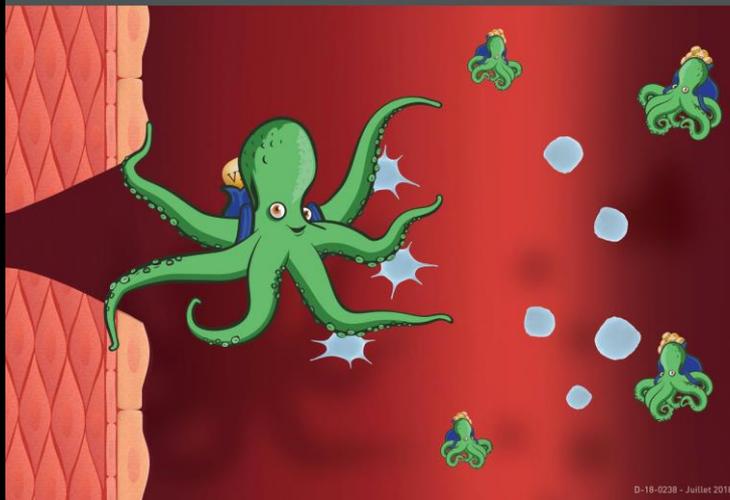
VWD : DÉFICITS QUALITATIFS : 2M



D-18-0238 - Juillet 2018

Willebrand Type 2M
Déficit fonctionnel en VWF (diminution des interactions entre vWF et plaquettes) *mais multimères de haut poids moléculaire normaux*

VWD : DÉFICITS QUALITATIFS : 2N



D-18-0238 - Juillet 2018

Willebrand Type 2N
Déficit fonctionnel en VWF (affinité du vWF pour le FVIII diminuée)

NB: responsable de déficit majeur en FVIII

Signes cliniques

- Hémorragies cutanéomuqueuses: ecchymoses, épistaxis, gingivorragies, ménorragies
- Spontanées ou provoquées par un traumatisme minime
- Saignements post-traumatiques de la cavité buccale et hémorragies amygdaliennes assez caractéristiques chez l'enfant
- manifestations hémorragiques très fréquentes après avulsion dentaire
- Grande variabilité du syndrome hémorragique selon type
 - ✓ 30 à 40 % types 1 et 2 asymptomatiques ou hémorragies cutanéomuqueuses modérées
 - ✓ Type 3: syndrome hémorragique grave
 - ✓ Chez un individu donné: manifestations hémorragiques irrégulières, avec tendance à diminuer avec l'âge
 - ✓ Dans une famille donnée: intensité variable d'un individu à l'autre
- *Diagnostic différentiel avec hémophilie A:*
 - ✓ *Peu ou pas d'hémarthrose*
 - ✓ *Peu ou pas d'hématomes profonds*

Diagnostic biologique

- Critères indispensables
 - ✓ **Syndrome hémorragique personnel évocateur**
 - ✓ **Au moins 1 autre membre de la famille atteint**
 - ✓ **Présence d'une anomalie biologique compatible**

- ☒ Si les 3 critères ne sont pas remplis, parler de déficit en facteur Willebrand

- 3 étapes
 - ✓ Tests de dépistage d'un syndrome hémorragique
 - ✓ Tests de confirmation
 - ✓ Tests permettant de préciser type et sous type

Diagnostic biologique: tests de dépistage

- **Numération plaquettaire:**
 - ✓ Thrombopénie dans les 2B

- **Temps de Céphaline Activé**
 - ✓ Non spécifique
 - ✓ Normal ou peu allongé en fonction de l'abaissement éventuel du FVIII
 - ✓ Allongé dans les types 2N et 3
 - ✓ Utile dans le diagnostic différentiel des autres déficits responsables de maladies hémorragiques

Diagnostic biologique: confirmation MVW et type

- **Dosage de l'activité**

- Définit l'activité biologique du vWF
- Valeurs normales: 50 à 150%
- Interprétation en fonction du groupe sanguin
- Calcul du ratio vWF:Rco/vWF:Ag
 - ⇒ Ratio <0,7 dans les déficits qualitatifs
 - ⇒ normalement voisin de 1

- **Dosage immunologique du FvW (vWF:Ag)**

- ✓ Dosage immunologique quantitatif donc ne détecte pas les variants
- ✓ Sans distinction formes haut et bas poids moléculaires
- ✓ Normale: 50 à 150%
- ✓ Attention aux variations physiologiques (groupe ABO, inflammation, âge, grossesse, oestroprogestatifs)

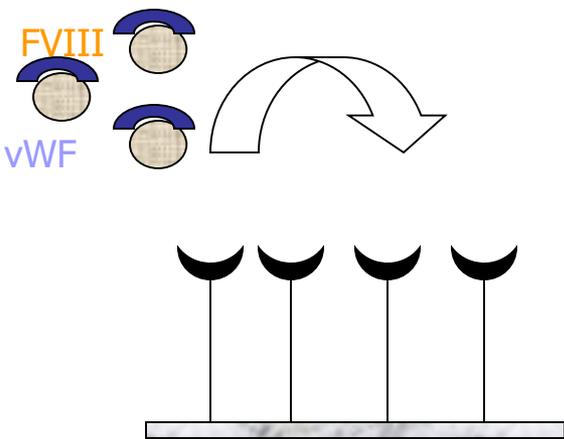
Diagnostic biologique: confirmation MVW et type

- **Dosage du FVIII:C**
 - ✓ dosage chromométrique
 - ✓ peut refléter indirectement une anomalie du vWF
 - ✓ Normal type 1 modéré et subnormal dans les anomalies qualitatives frustes
 - ✓ Toujours diminué dans le type 3
 - ✓ Essentiel au diagnostic différentiel de l'hémophilie A

Diagnostic biologique: détermination sous-type

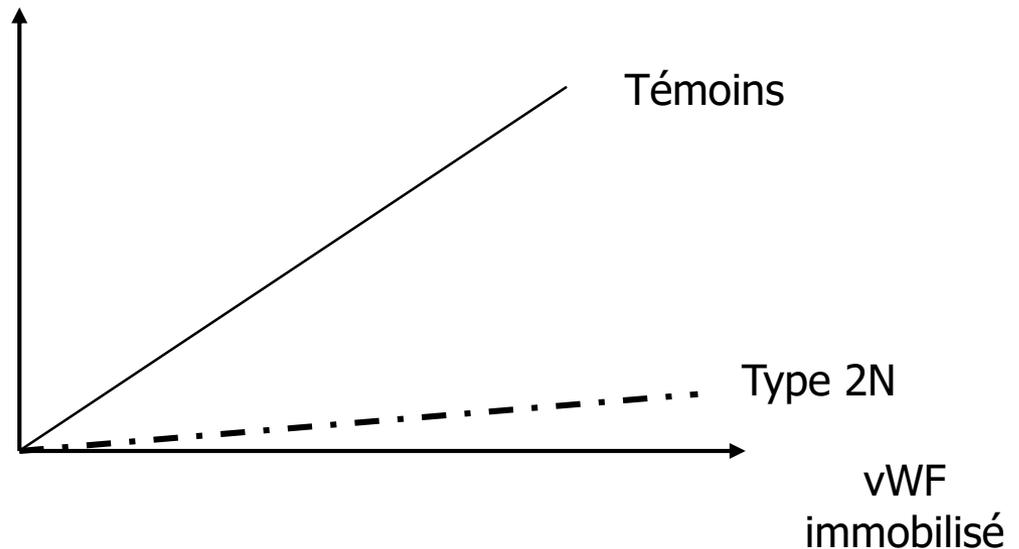
- **Etude de la liaison au FVIII**

- ✓ intérêt pour la caractérisation du **type 2N** caractérisé par baisse d'affinité du vWF pour le FVIII
- ✓ principe technique de l'ELISA



Plaque recouverte d'Ac monoclonaux anti vWF humain

FVIII
révélé

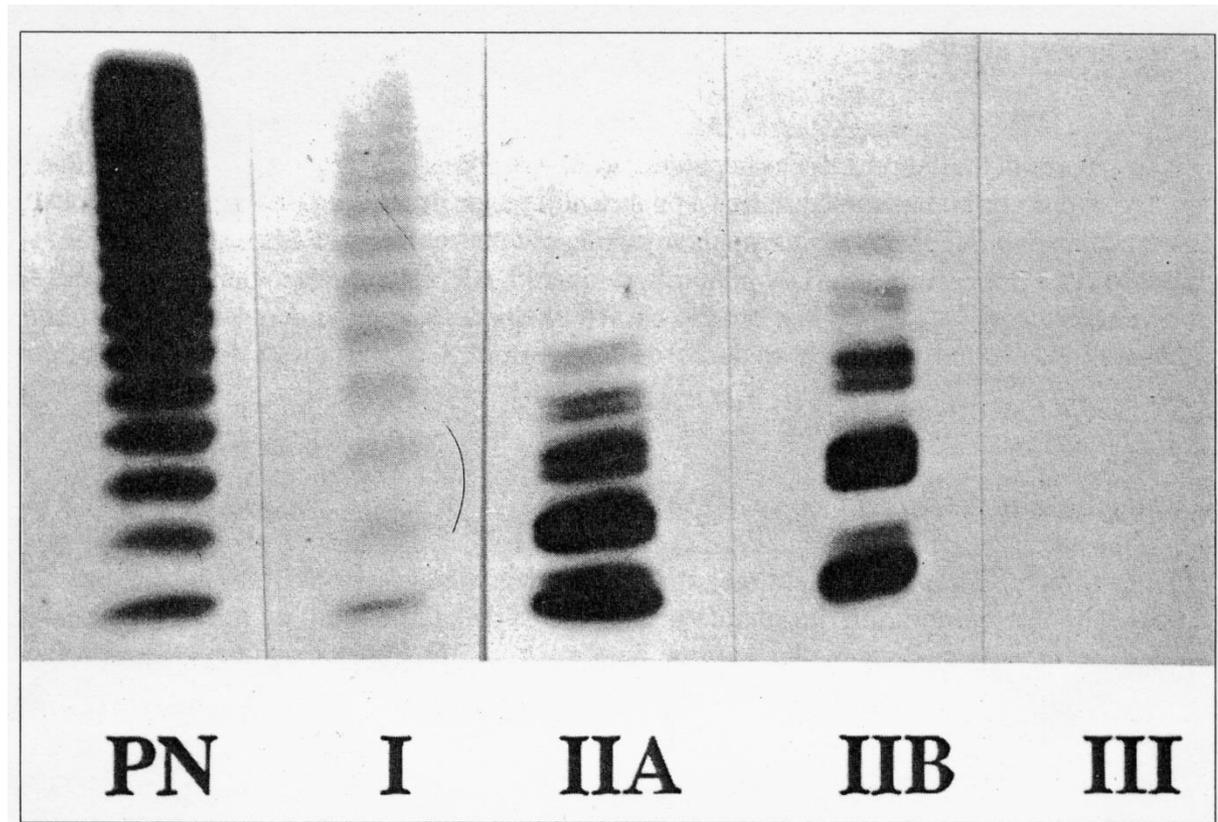


La pente de la régression linéaire est le reflet de la capacité de liaison du vWF au FVIII.

Diagnostic biologique: détermination du sous-type

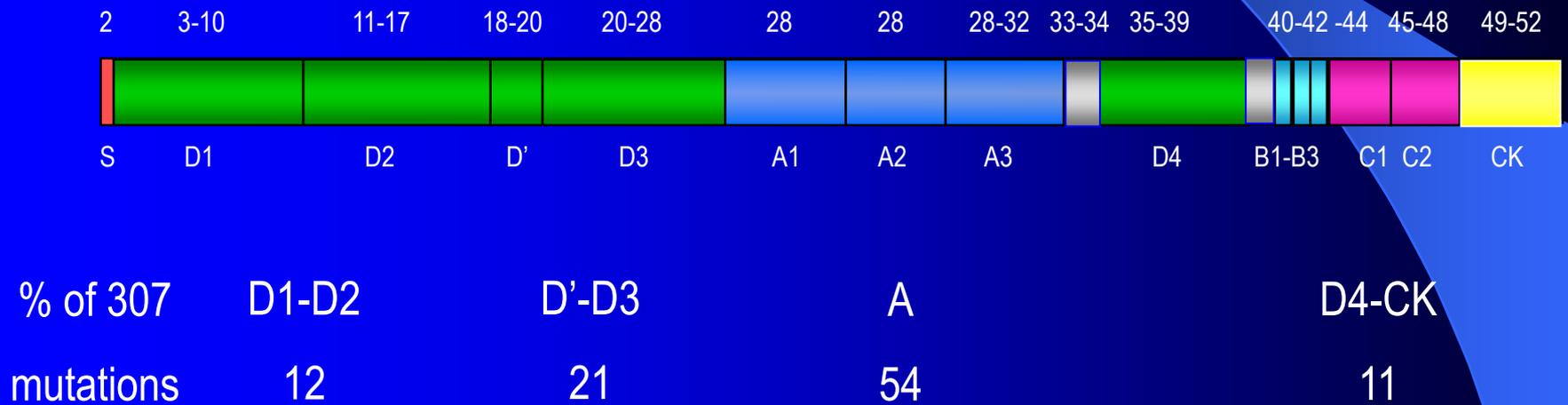
- **Etude de la distribution des multimères**
 - ✓ technique longue, complexe et délicate : laboratoires spécialisés
 - ✓ 2 étapes:
 - séparation électrophorétique des multimères du plasma en gel d'agarose contenant un agent dissociant (SDS), par tamisage moléculaire
 - révélation par Ac anti-vWF
 - ✓ 2 possibilités :
 - faible [C] agarose: chaque multimère migre comme une bande
 - forte [C] agarose augmente la résolution: chaque multimère migre en plusieurs bandes

Diagnostic biologique: détermination du sous-type



Distribution des multimères du facteur Willebrand dans le plasma

Location of 307 VWF Mutations



Large deletions 2%

Diagnostic différentiel

- **Sujet normal**
 - ✓ Une des plus grandes difficultés: distinction sujet normal/Willebrand modéré (surtout chez sujets groupe O)
 - ✓ Attention existence cas familiaux, survenue hémorragies excessives par rapport cause
 - ✓ Répéter l'examen au moins 2 fois
 - ✓ Si vWF:Rco<15%, évoquer type 1
 - ✓ Dans les autres cas, déficit modéré en vWF
- **Syndrome de Willebrand acquis**
- **Hémophilie A**
 - ✓ Distinction avec type 2N (Normandie)
 - ✓ Différence se fait sur l'étude de liaison au FVIII

Timing of hemostasis

**I
N
J
U
R
Y**

Primary Hemostasis

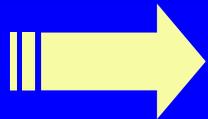
- vasoconstriction (immediately)
- platelet adhesion (seconds)
- platelet aggregation (minutes)

Blood Coagulation

- activation of clotting factors (seconds)
- fibrin formation (minutes)

Fibrinolysis

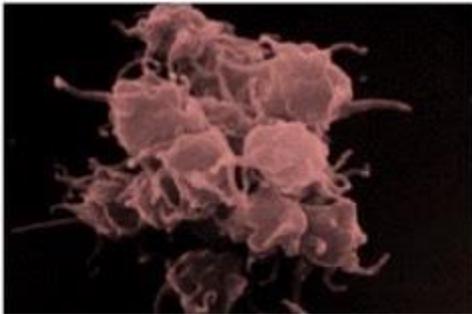
- activation of fibrinolytic factors (immediately)
- clot lysis (hours)



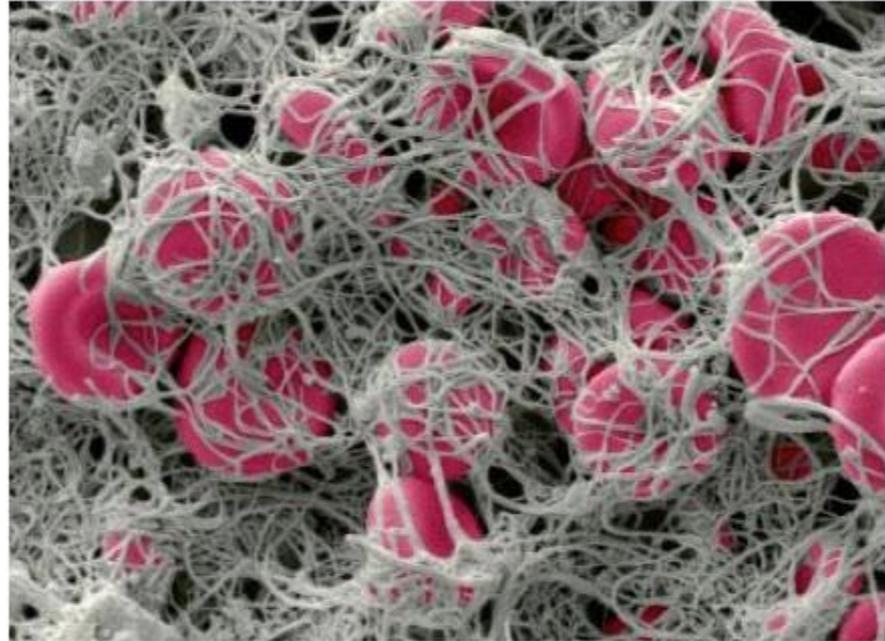
RESTING



ACTIVATED



Isolated Platelets

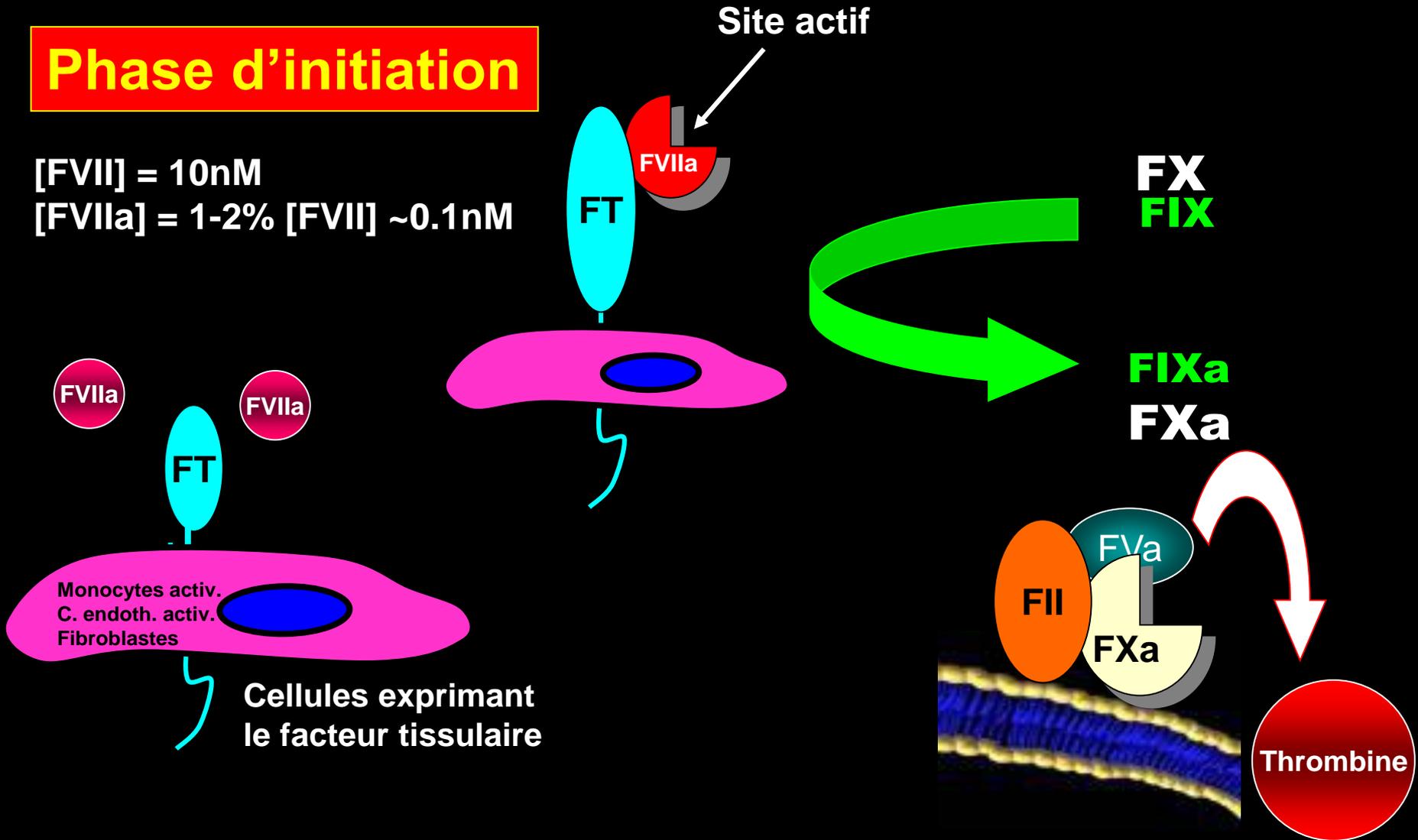


Fibrin Strands in a Blood Clot

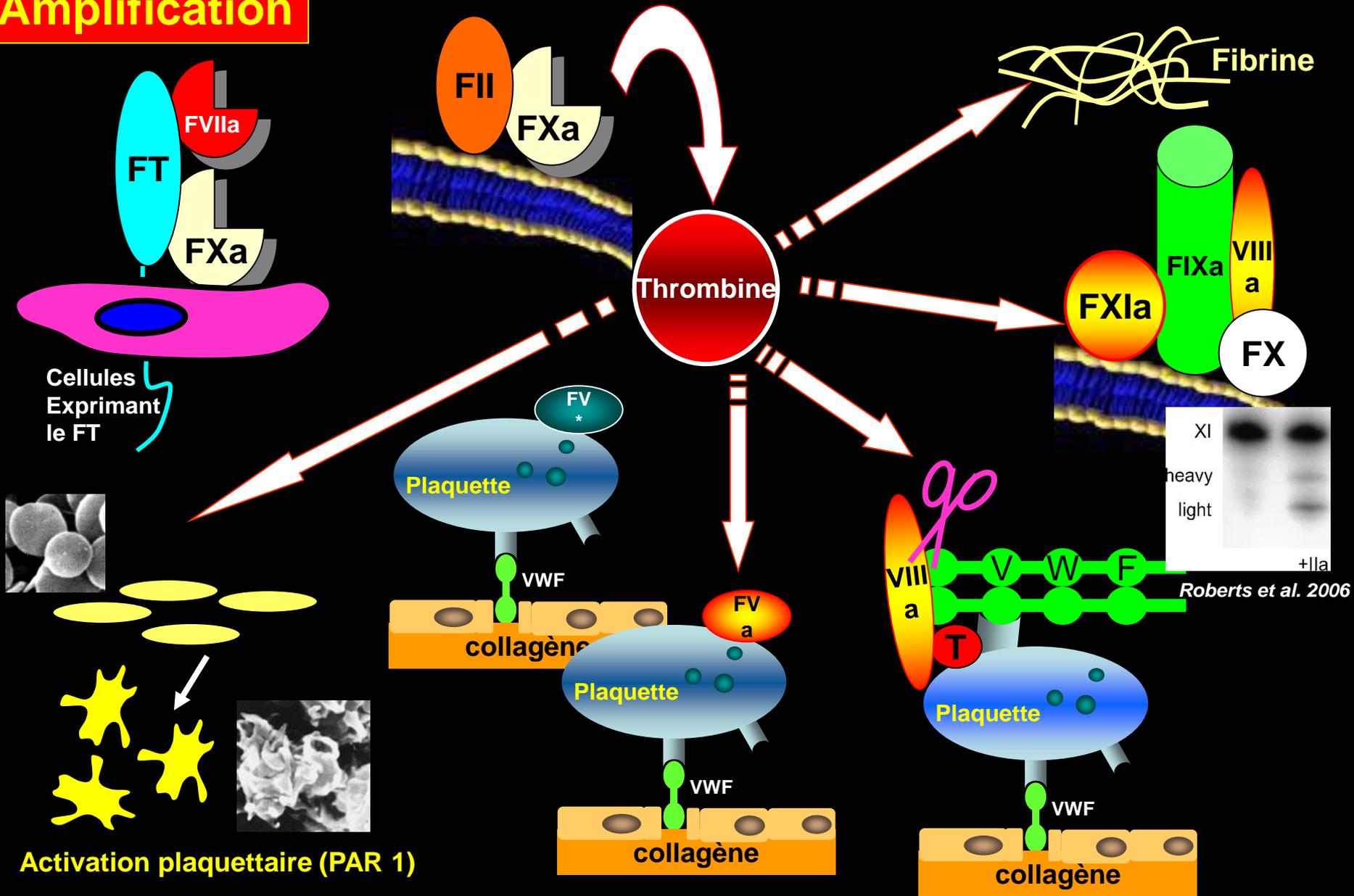
Surfaces Cellulaires et Génération de Thrombine

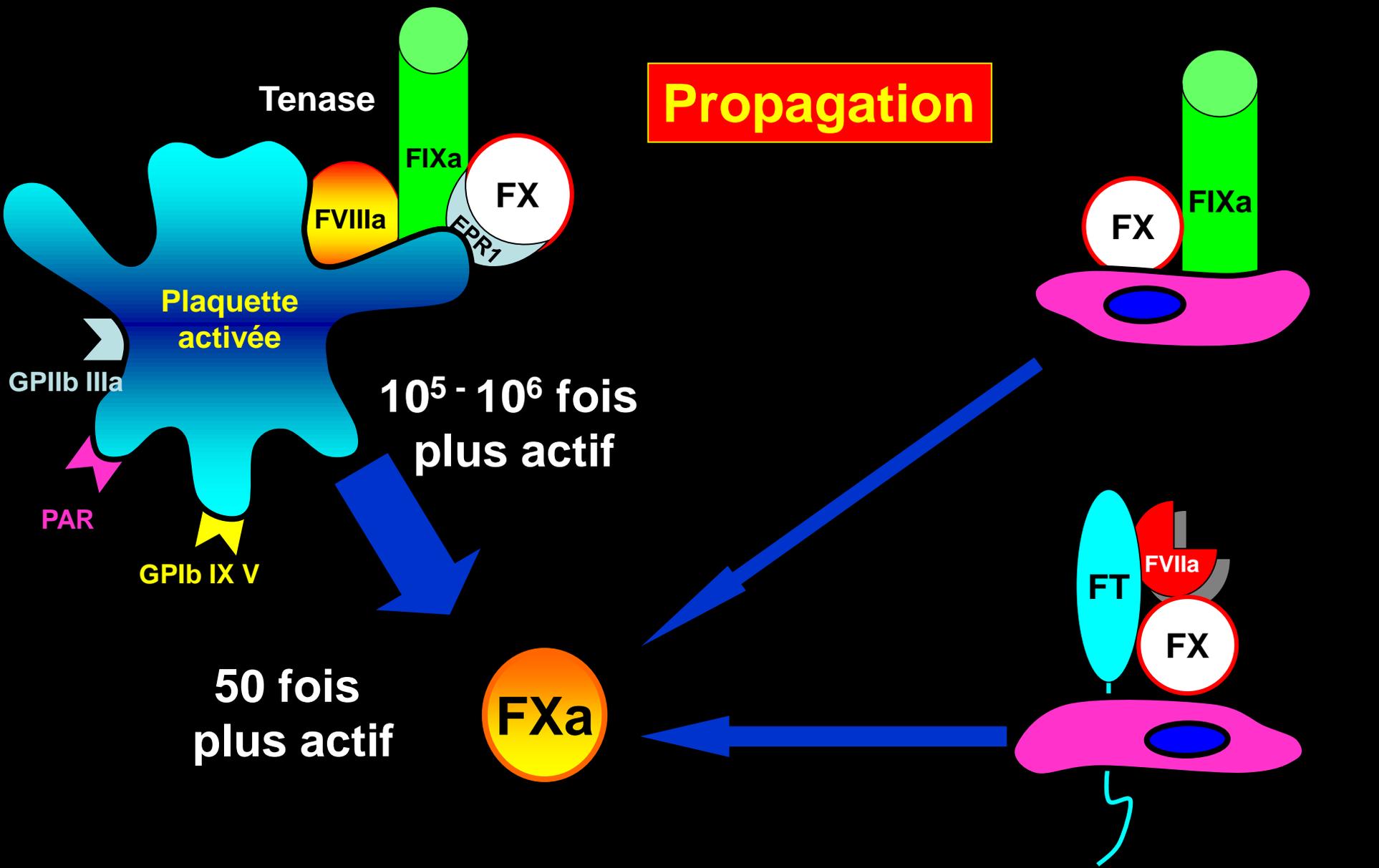
Phase d'initiation

[FVII] = 10nM
[FVIIa] = 1-2% [FVII] ~0.1nM



Amplification

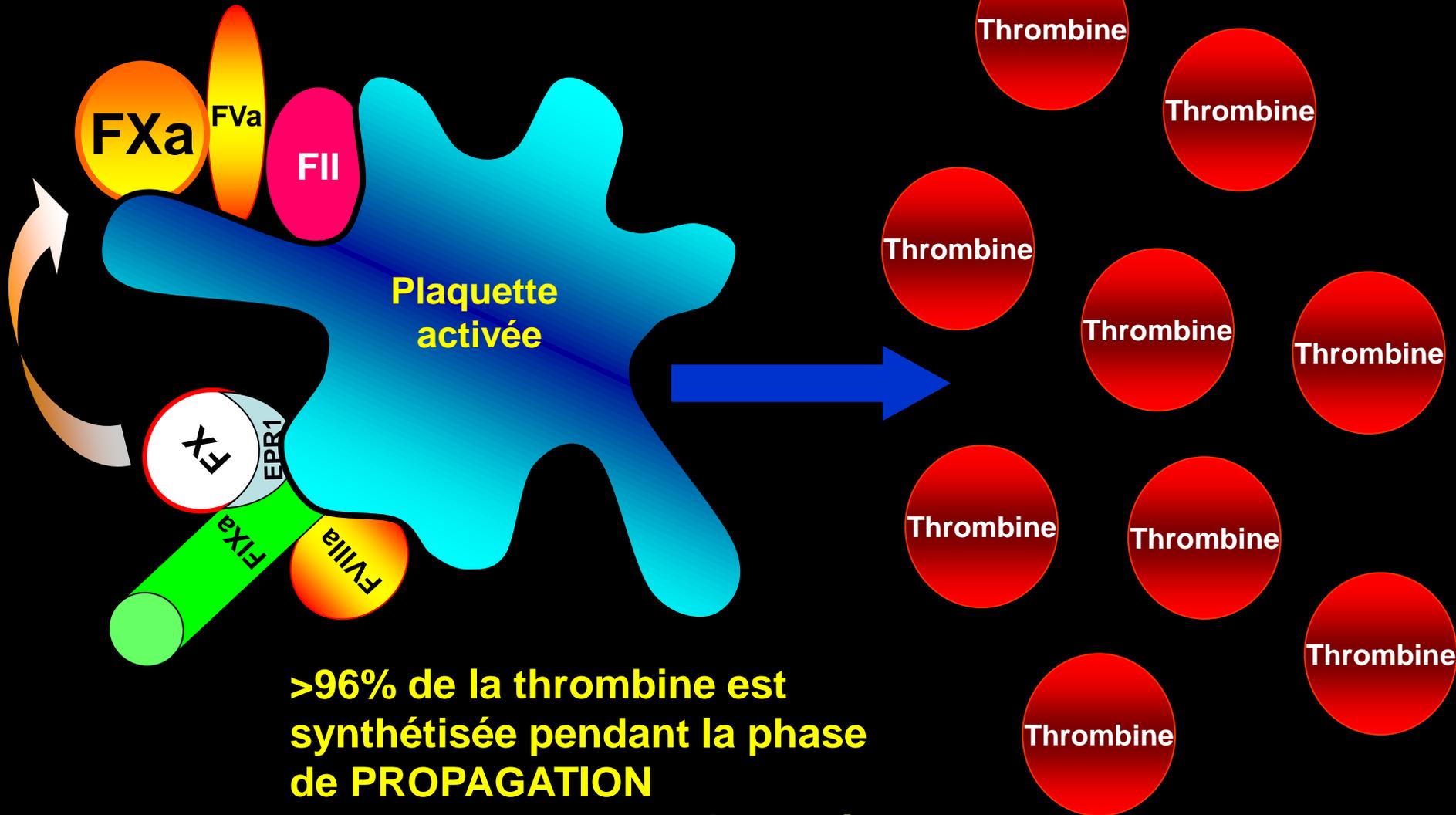




>90% du FXa est produit par le complexe FVIIIa-FIXa sur les plaquettes activées

Propagation

Prothrombinase **300 000 fois plus active** que le FXa seul pour transformer le FII en Thrombine

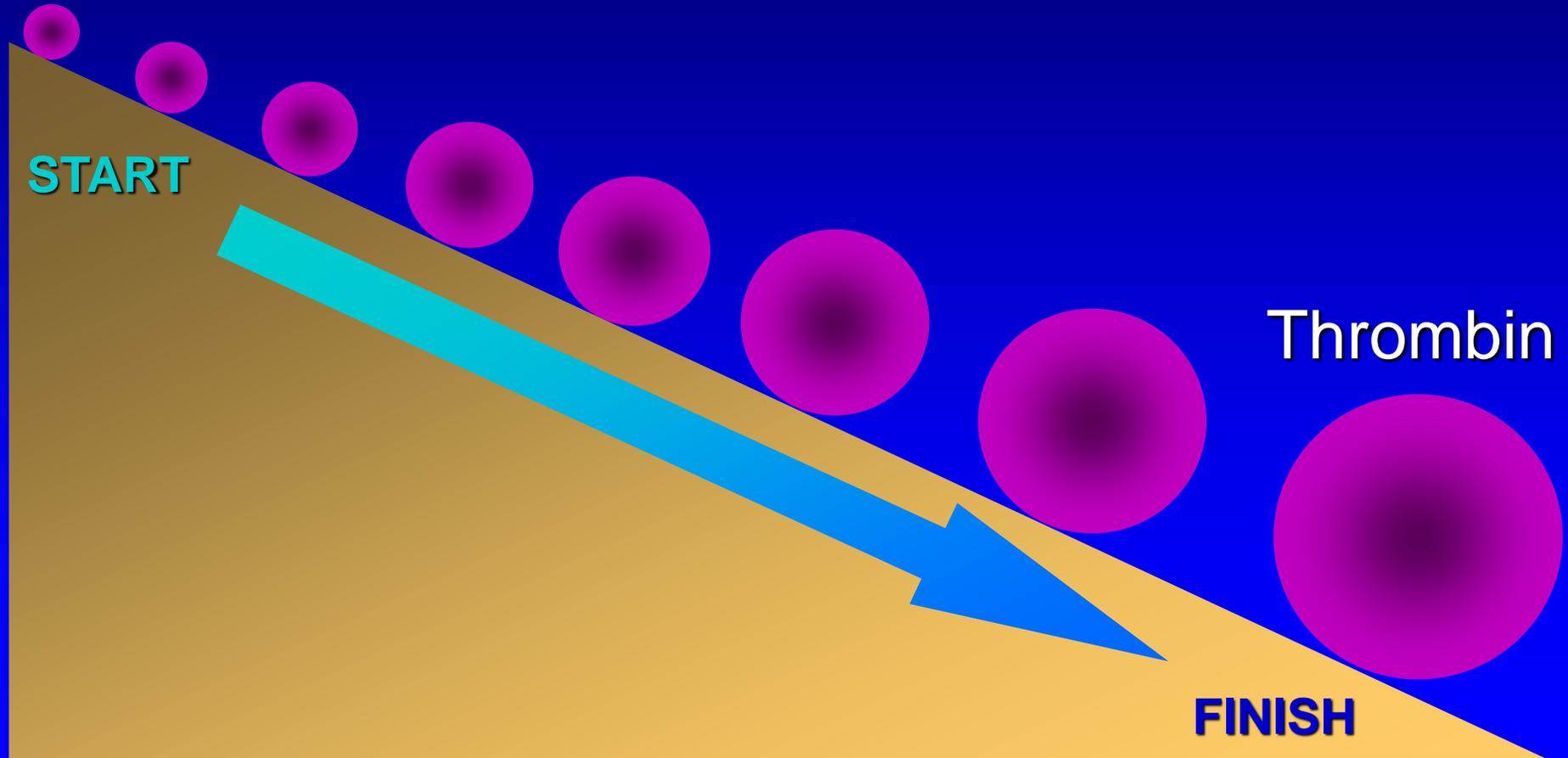


>96% de la thrombine est synthétisée pendant la phase de PROPAGATION sur des PLAQUETTES activées

Amplification

The 'snowball' effect

Factor XII



START

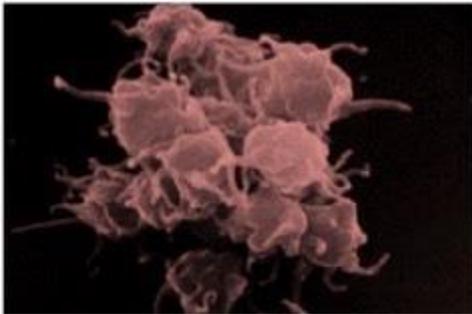
Thrombin

FINISH

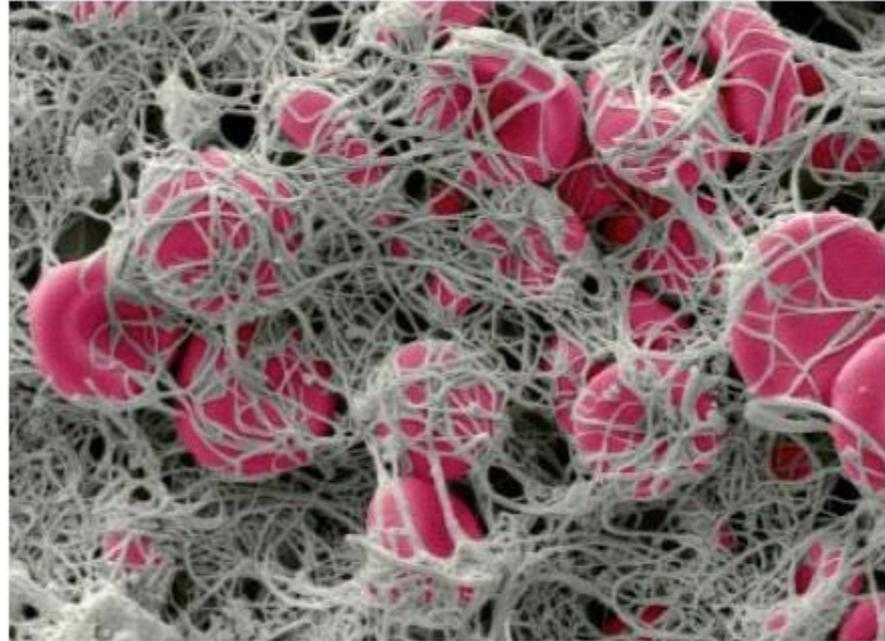
RESTING



ACTIVATED



Isolated Platelets



Fibrin Strands in a Blood Clot

'Classical' coagulation

