

COMMUNICATION

Glycoprotéines, maladies héréditaires des plaquettes, rôle des plaquettes dans la réparation tissulaire

MOTS-CLÉS : PLAQUETTES. MALADIE/GÉNÉTIQUE

Glycoproteins, inherited diseases of platelets, and the role of platelets in wound healing

KEY-WORDS (Index medicus): BLOOD PLATELETS. DISEASE/GENETICS

Alan T. NURDEN *, Paquita NURDEN *

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cet article

RÉSUMÉ

La description de la présence sur les plaquettes d'un « glycocalyx » riche en glycoprotéines membranaires a permis de découvrir, en France, que des syndromes hémorragiques héréditaires liés à des anomalies de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire résultaient d'un déficit en récepteurs essentiels de la surface plaquettaire. L'identification de l'intégrine $\alpha IIb\beta 3$ a été suivie par la mise en place de puissants médicaments anti-thrombotiques utilisés sur le plan mondial. Depuis ces découvertes, l'origine génétique d'un grand nombre de défauts de la fonction et de la production plaquettaire a été décrite, comme l'identification d'un récepteur de l'ADP, P2Y12, actuellement cible majeure des drogues anti-thrombotiques. La découverte récente de la base moléculaire d'une maladie rare du stockage des protéines biologiquement active dans les granules- α des plaquettes, est associée à l'identification de nouveaux rôles des plaquettes dans l'inflammation, le système immunitaire et dans la réparation tissulaire, découvertes qui ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques.

SUMMARY

Recognition that platelets have a « glycocalyx » rich in membrane glycoproteins prompted the discovery in France that inherited bleeding syndromes due to defects of platelet adhesion

* Plateforme technologique d'Innovation Biomédicale, Hôpital Xavier Arnoz, Avenue du Haut Lévêque — 33600 Pessac ; e-mail : nurdenat@gmail.com

Tirés à part : Professeur Alan T. NURDEN, même adresse

Article reçu le 2 février 2013, accepté le 18 février 2013

and aggregation were caused by deficiencies in major receptors at the platelet surface. Identification of the α IIb β 3 integrin prompted the development of powerful anti-thrombotic drugs that have gained worldwide use. Since these discoveries, the genetic causes of many other defects of platelet function and production have been elucidated, with the identification of an ADP receptor, P2Y12, another widespread target for anti-thrombotic drugs. Discovery of the molecular basis of a rare disease of storage of biologically active proteins in platelet α -granules has been accompanied by the recognition of the roles of platelets in inflammation, the innate immune system and tissue repair, opening new avenues for therapeutic advances.

INTRODUCTION

Remarques historiques

L'observation fondamentale d'une couche épaisse riche en glucides appelée « glyco-calyx » de 150 à 200 Å de la surface plaquettaire fut rapportée pour la première fois dans les années soixante, grâce à la microscopie électronique [1, 2]. L'application des mêmes techniques d'histo-chimie à l'analyse des substances composant cette couche révélait par la suite la présence des glycoprotéines (GPs) de forte charge négative [3]. Les plaquettes sanguines sont des sentinelles du sang, prêtes à intervenir pour arrêter le saignement lors d'une brèche vasculaire. Obligatoirement, les processus d'adhésion et d'agrégation plaquettaire impliquent la participation des constituants de la surface plaquettaire. Une autre étape clé a été la reconnaissance que des syndromes hémorragiques héréditaires résultaient de défauts de la fonction des plaquettes et de leur interaction avec les vaisseaux [4]. C'est en France qu'Alan Nurden et Jacques Caen ont montré pour la première fois les rôles spécifiques des glycoprotéines membranaires dans la fonction plaquettaire en précisant les défauts génétiques dans les deux principaux syndromes [5]. Dans cette courte revue nous allons présenter ces travaux dans une perspective récente en montrant comment les maladies héréditaires qui touchent la fonction et la production plaquettaire constituent un groupe de maladies rares d'un intérêt majeur non seulement du point de vue de la biologie cellulaire mais également par les informations fournies qui sont utilisées pour la conception de nouvelles stratégies thérapeutiques anti-thrombotiques. Les principales pathologies ainsi que les gènes impliquant la surface plaquettaire sont résumés dans la figure 1, celles qui concernent les organelles ou des protéines intracellulaires sont présentées dans la figure 2.

Syndrome de Bernard-Soulier (BSS) et l'axe VWF-GPIb-Filamine A

Le syndrome de BSS est caractérisé par des plaquettes géantes en nombre réduit (macrothrombopénie) avec un défaut d'attachement des plaquettes au niveau des sites de lésions vasculaires [6]. Ce syndrome hémorragique est lié à l'absence ou à une anomalie de fonctionnement du récepteur plaquettaire GPIb-IX-V (Figure 1), récepteur responsable de l'interaction des plaquettes avec le facteur von Willebrand

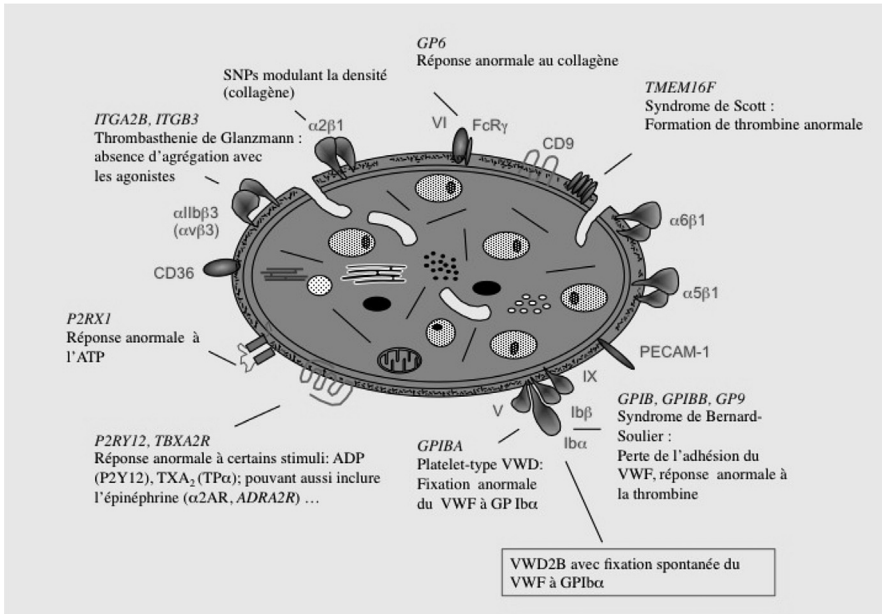


FIG. 1. — Schéma montrant les principales anomalies héréditaires des récepteurs de la membrane plaquettaire.

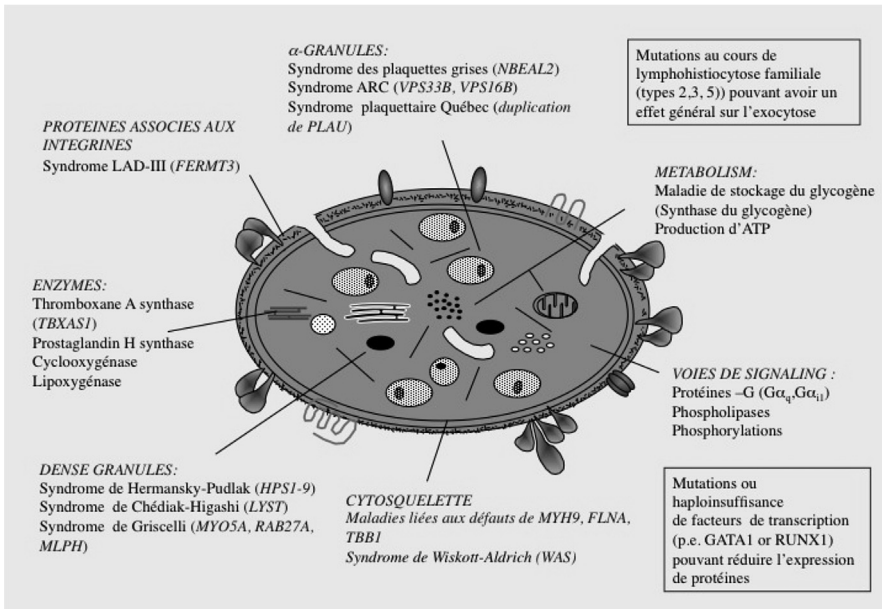


FIG. 2. — Schéma montrant les principales anomalies héréditaires des protéines ou des organelles intracellulaires des plaquettes ou les mégacaryocytes.

(VWF) exposé au sous-endothélium dans des conditions de fortes forces de cisaillement [7]. C'est la GPIb α sous unité très fortement glycosylée qui fixe le VWF au niveau de son domaine extracellulaire N-terminal [8]. Des sites de liaison pour d'autres protéines y compris la thrombine sont également présentes [6]. Les produits de 4 gènes (*GPIBA*, *GPIBB*, *GP9*, *GP5*) s'assemblent dans un rapport 2 :4 :2 :1 dans les mégacaryocytes (MKs), cellules médullaires précurseurs des plaquettes, pour former le complexe GPIb-IX-V. Des mutations au sein de *GPIBA*, *GPIBB* et *GP9* empêchent la formation et/ou le transport du complexe à travers le réticulum endoplasmique (ER) et l'appareil du Golgi entraînant la libération de plaquettes morphologiquement anormales dépourvues de ce récepteur essentiel pour assurer l'hémostase. Dans quelques cas, un récepteur non fonctionnel est exprimé [6, 9]. L'absence totale du VWF plasmatique et plaquettaire représente la base du syndrome de von Willebrand (VWD, type III) avec un syndrome hémorragique sévère mais des plaquettes de taille majoritairement normale. Par contre la fixation spontanée du VWF à la GPIb α résultant de mutations faux sens touchant soit directement la GPIb α (« platelet-type VWD ») ou le domaine A1 du VWF (« type 2B VWD »), bloquent le fonctionnement de ce récepteur d'adhésion ; il s'agit de mutations pour lesquelles nous avons montré une modification de la mégacaryocytopoïèse avec la formation anormale de proplaquettes produisant des plaquettes anormalement grande et parfois agglutinées [9, 10].

L'absence d'interaction entre la GPIb α et la filamine A, protéine du cytosquelette a pour conséquence la production des plaquettes géantes comme le montre notre découverte de macrothrombopénies chez certains patients présentant des mutations de *FLNA* ; des mutations de ce gène localisé sur le chromosome X sont également responsables d'hétérotopie nodulaire périvertriculaire, du syndrome otopalatodigital ou encore d'anomalies cardiaques [11]. À souligner également d'autres macrothrombopénies associées aux mutations de gènes codant pour les protéines du cytosquelette plaquettaire, comme par exemple des gènes *MYH9* (myosine-IIA) et *TBB1* (tubuline β -1) [9]. Fait important, ces thrombopénies ont été considérées dans le passé pour de nombreux patients comme résultant d'un processus auto-immun [12].

L'intégrine α IIb β 3 et la thrombasthénie de Glanzmann (TG)

La TG est le désordre principal de l'agrégation plaquettaire ; les plaquettes n'agrègent pas en réponse aux agonistes physiologiques. Ce défaut majeur résulte d'anomalies quantitatives ou qualitatives de l'intégrine α IIb β 3 (antérieurement appelé le complexe GPIIb-IIIa) [4, 5, 13]. En hémostase normale, l' α IIb β 3 de plaquettes activées fixe le fibrinogène (Fg) ainsi que d'autres protéines adhésives dans le but d'attacher les plaquettes ensemble dans l'agrégat [14]. D'autres anomalies de la TG comprennent un étalement anormal des plaquettes sur le collagène, tandis que la rétraction du caillot et le stockage α IIb β 3-dépendents du Fg dans les granules α sont affectés de manière variable selon la nature de la mutation. La TG a été l'objet récemment de deux revues détaillées [15, 16].

Le séquençage direct des gènes *ITGA2B* et *ITGB3* permet la détection de la plupart des mutations responsable de la TG. Du fait de la transmission autosomique récessive la plupart des cas résultent d'anomalies hétérozygotes composites sauf dans certains groupes ethniques comme les Manouches en France où la consanguinité est fréquente [17]. Les défauts génétiques sont localisés tout au long des deux gènes qui se trouvent sur le chromosome 17q21-23. Les mutations non-sens, celles au niveau des sites d'épissage (avec décalage du cadre de lecture) et les mutations faux-sens sont toutes fréquentes. Pour la plupart, elles empêchent la synthèse ou la maturation de l' α I**Ib** β 3 au sein des MKs et/ou le transport de l'intégrine vers les systèmes membranaires destinés à constituer les plaquettes. Les mutations touchant la région dite « β -propeller » de l' α I**Ib** et celles qui touchent les domaines « EGF » de la β 3 sont particulièrement abondantes. L'analyse épidémiologique de la TG est maintenant en cours de réalisation comme l'illustrent par exemple des études réalisées en Inde [18, 19].

β 3 fait partie également du récepteur de la vitronectine (α v β 3) très répandu dans les cellulaires tissulaires et sanguines, ce récepteur n'est que faiblement représenté dans les plaquettes. Dans la TG, l' α v β 3 est absente si la lésion génétique empêche la synthèse de la β 3. Pour autant, les patients avec des mutations de l'*ITGB3* n'ont pas un phénotype distinct contrairement aux souris déficitaires en β 3 ; pour ces patients il n'existe pas de preuves d'une formation anormale du système vasculaire (angiogénèse), ni d'une densification osseuse anormale ou d'une incidence augmentée d'avortements. Une éventuelle influence sur l'incidence des tumeurs ou de leur progression reste également à étudier chez les patients [15]. Néanmoins, un nombre surprenant de rapports de thrombose veineuse profonde incite à s'interroger sur un éventuel facteur de risque dans la TG [20].

Dans les cas de variants de TG, les plaquettes expriment une intégrine non fonctionnelle à des taux qui normalement devraient permettre une agrégation [15, 16]. Pour la plupart, les mutations concernent l'*ITGB3*. Des substitutions d'acides aminées (par exemple Asp119Tyr, Arg214Gln or Trp) touchant les domaines MIDAS, ADMIDAS ou SyMBS de la β 3 ont contribué à l'identification des sites responsables de la liaison des ligands au niveau de l'intégrine activée [14-16]. De même, une substitution Ser752Pro au niveau du domaine intra-cytoplasmique de β 3, ou des codons stop conduisant à une β 3 tronquée, ont aidé à identifier des séquences essentielles de l'« inside-out signalling » et de l'activation d' α I**Ib** β 3 suite à la liaison avec la kindline-3 et avec la taline, deux protéines cytoplasmiques [21]. Les conséquences de la mutation Cys560Arg dans β 3 entraînant la formation d'une intégrine résiduelle spontanément activée capable de lier le Fg directement, étaient inattendues [22] ; une situation qui rappelle le « platelet-type VWD » où les multimères normaux du VWF se fixent sur une GPIb α mutée en bloquant sa fonction [9]. En effet, des mutations touchant de multiples ponts disulfures au sein des domaines « EGF » de β 3 à la fois interfèrent sévèrement avec l'expression d' α I**Ib** β 3 et conduisent à une activation au moins partielle de l'intégrine [23]. La correction de la TG chez des chiens par thérapie génique avec un vecteur basé sur l'utilisation d'un

lentivirus constitue une stratégie encourageante pour un traitement de longue durée pour des patients TG sévèrement atteints [24].

Un nouveau type de variant de TG a été récemment mis en évidence ; dans ces rares cas des mutations au sein d'*ITGA2B* et d'*ITGB3* entraînent une thrombopénie modérée et une anisocytose plaquettaire tout en réduisant la fonction d' α IIb β 3 [25]. Ces mutations touchent pour la plupart les domaines intra-cytoplasmiques d' α IIb et de β 3 et plus particulièrement une liaison ionique entre l' α IIbArg995 et la β 3Asp723 ; elles peuvent aussi favoriser une activation d' α IIb β 3 [21, 26]. De telles mutations modifient l'interaction entre les MKs et les protéines de la matrice extracellulaire tout en inhibant la production des proplaquettes [27]. Le syndrome LAD-III (« leukocyte adhesion deficiency-III ») associe un syndrome hémorragique sévère à des infections importantes et à une réparation tissulaire retardée. Ce phénotype résulte de mutations qui empêchent la synthèse ou le fonctionnement de la kindline-3 (*FERMT3*), protéine essentielle pour l'activation (et donc le fonctionnement) de toute les intégrines présente dans les plaquettes, les globules blancs et aussi les cellules endothéliales [28]. Les études menées sur la TG ont été pionnières dans la compréhension du mécanisme de l'agrégation plaquettaire. Les voies moléculaires identifiées sont également impliquées dans la thrombose artérielle. L'inhibition de l'agrégation plaquettaire par des anticorps naturels formés contre l' α IIb β 3 après transfusion de plaquettes de patients atteints de TG lors d'épisodes hémorragiques sévères a stimulé la recherche de substances mimant ces effets en thérapeutique anti-thrombotiques [29]. Trois agents, l'abciximab, le tirofiban et l'éptifibatide sont de puissants inhibiteurs de la thrombose artérielle qui améliorent le pronostic des patients atteints de coronaropathies aiguës ; leur utilisation est mondiale [14].

Récepteurs primaires et voies de signalisation

Des défauts des plaquettes héréditaires restreintes à une ou plusieurs voies de l'agrégation sont une source fréquente de saignement [14]. Les plaquettes possèdent deux classes de récepteurs purinergiques pour l'ADP qui est un stimulus très important de l'agrégation et de la thrombose. Seuls les patients avec des anomalies quantitatives ou qualitatives du P2Y₁₂ ont été caractérisés. Leur phénotype correspond à une agrégation réduite et réversible aux fortes doses d' l'ADP avec anomalie de l'inhibition de l'adenylate cyclase. C'est l'analyse par PCR de produits obtenus à partir de l'ADN génomique d'un patient de Bordeaux qui a permis l'identification de ce récepteur et donc de cette pathologie [30]. Plusieurs mutations chez des patients sont maintenant décrites [31]. Fait important, ce récepteur est la cible de plusieurs drogues anti-thrombotiques y compris le clopidogrel et le prasugrel dont l'utilisation est très répandue [31]. Une anomalie de l'agrégation à l'acide arachidonique (AA) est liée aux mutations du récepteur (TP α) du thromboxane A₂ (métabolite de l'AA) (Figure 1) [9].

Des pathologies des voies de signalisation intra-plaquettaires ont également été trouvées chez des patients avec défauts d'agrégation et de sécrétion spécifiques à

certaines stimuli [9]. Sur la Figure 2 sont rapportées la plupart des protéines ou enzymes déjà identifiées comme pouvant être à l'origine de pathologies. De telles anomalies entravent souvent l'activation d' α IIb β 3. Un effort international est entrepris pour découvrir les mutations responsables de ces pathologies accompagnées ou non de thrombopénies, en utilisant soit une approche phénotypique soit de nouvelles technologies telles que l'« exome sequencing » [32, 33]. Les défauts de signalisation peuvent être spécifiques aux plaquettes et aux MKs ; mais ils peuvent aussi concerner d'autres types cellulaires ou être secondaire à des anomalies des facteurs de transcription [9].

Anomalies de sécrétion, les granules alpha et les effets non hémostatiques des plaquettes

Les granules denses constituent des organites stockant de la sérotonine, du Ca²⁺, de l'ADP et ATP. Les « storage pool diseases » constituent une cause fréquente de défauts d'agrégation car l'ADP est un cofacteur essentiel [9]. L'anomalie peut être due à un défaut de biogénèse des granules ou de stockage de leur contenu, ou encore concerner les voies moléculaires de l'exocytose. Quand l'absence des granules denses est associée aux anomalies des lysosomes dans des fibroblastes la conséquence est un phénotype facilement identifiable dû à l'absence de pigmentation (par exemple, les syndromes d'Hermansky-Pudlak et de Chédiak-Higashi). Ces désordres ainsi que d'autres anomalies de la sécrétion sont présentés sur la Figure 2. À noter le rôle clé qu'exerce la sérotonine dans la vasoconstriction et dans la réparation tissulaire [34]. Les granules alpha sont des sites de stockage d'une grande variété de protéines dont la sécrétion est nécessaire non seulement pour la stabilisation des agrégats, mais également pour assurer les autres rôles non hémostatiques des plaquettes [34, 35]. Parmi les protéines sécrétées on note des cytokines, des chémokines et des facteurs de croissances. En même temps un nombre de glycoprotéines intrinsèques à la membrane des granules alpha (par exemple, P-sélectine, CD40L) sont transportées vers la surface des plaquettes activées où ils interviennent dans des phénomènes d'inflammation. Le syndrome des plaquettes grises (GPS) est une maladie avec un syndrome hémorragique le souvent modéré dont le défaut moléculaire se situe au niveau de la biogénèse des granules alpha [9]. Parmi les caractéristiques phénotypiques de ce syndrome il y a une macrothrombopénie modérée, une splénomégalie et une myélofibrose. L'agrégation plaquettaire est variable et les plaquettes contiennent peu ou pas de granules alpha avec comme conséquence un déficit très important en protéines comprenant à la fois celles qui sont synthétisées par les MKs (par exemple, le VWF) et celles qui sont captées par endocytose à partir du milieu plasmatique (par exemple le Fg) [36, 37]. En même temps, de petites vésicules contenant le pool d'inhibiteurs tissulaires, des métalloprotéinases, sont toujours présentes dans les plaquettes grises, ces vésicules semblent correspondre aux granules T récemment décrits [37, 38]. En 2011, trois groupes utilisant des technologies de séquençage de la nouvelle génération y compris l'analyse de l'exome, ont montré que le GPS est le résultat de mutations du *NBEAL2*, gène qui appartient à la même

famille que *LYST* qui lui est muté dans le syndrome de Chédiak-Higashi (voir ci-dessous) [9, 32, 38, 39]. Cette section comporte également le syndrome plaquettaire de Québec avec une dégradation protéolytique importante au sein des granules alpha due à une hyperproduction (et stockage) de l'activateur de plasminogène de type urokinase (u-PA) dont la base moléculaire est un « tandem-duplication » du gène pour l'u-PA, *PLAU* [40].

La capacité des granules alpha à stocker les protéines qui sont ensuite libérées par les plaquettes lors d'une challenge hémostatique fait l'objet d'une nouvelle stratégie de thérapie génique pour l'hémophilie A où les MKs sont modifiées génétiquement pour les rendre aptes à synthétiser le FVIII [41]. Le FVIII recombinant est transporté aux granules alpha en combinaison avec sa protéine porteuse, le VWF.

C'est grâce en partie aux études des maladies constitutionnelles des plaquettes que le rôle important de plaquettes dans l'inflammation et dans le système immunitaire a été reconnu [34]. Les plaquettes et les protéines libérées des granules alpha combattent l'infection, participent activement à la coagulation et à la fibrinolyse, promeuvent l'angiogenèse et l'ostéogénèse, et interviennent dans la re-modélisation vasculaire maternelle et fœtale. Les plaquettes activées, les microparticules d'origine plaquettaire ainsi que les protéines sécrétées participent également au développement de maladies fréquentes telles que l'athérosclérose, le cancer (métastase et croissance des tumeurs), la sclérose en plaques, les allergies, la polyarthrite rhumatoïde, la cirrhose et les maladies du système nerveux (déposition des plaques dans la maladie d'Alzheimer). En même temps de manière paradoxale, l'utilisation de caillots produits à partir d'un plasma-riche en plaquettes autologue ou plus simplement une préparation de protéines sécrétées est en plein développement sur le plan thérapeutique pour stimuler les processus de réparation tissulaire (par exemple, la reconstruction d'os, d'implants dentaires, des blessures sportives, des ulcères de la peau, les lésions de la cornée) [35].

BIBLIOGRAPHIE

- [1] FRENCH J.E. — Blood platelets: Morphological studies on their properties and life cycle. *Br. J. Haematol.*, 1967, 13, 595-602.
- [2] BEHNKE O. — Electron microscopical observations on the surface coating of human blood platelets. *J. Ultrastruct. Res.*, 1968, 54, 51-69.
- [3] NURDEN A.T. — Platelet macroglycopeptide. *Nature*, 1974, 251, 151-153.
- [4] CAEN J.P., CASTALDI P.A., LECLERC J.C., et al. — Congenital bleeding disorders with long bleeding time and normal platelet count. I. Glanzmann's thrombasthenia. *Am. J. Med.*, 1966, 41, 4-31.
- [5] NURDEN A.T., CAEN J.P. — Specific roles for platelet surface glycoproteins in platelet function. *Nature*, 1975, 255, 720-722.
- [6] BERNDT M.C., ANDREWS R.K. — Bernard-Soulier syndrome. *Haematologica*, 2011, 121, 522-544.

- [7] CAEN J.P., NURDEN A.T., JEANNEAU C., et al. — Bernard-Soulier syndrome : a new platelet glycoprotein abnormality. Its relationship with platelet adhesion to subendothelium and with factor VIII von Willebrand protein. *J. Lab. Clin. Med.*, 1976, 87, 586-596.
- [8] RUGGERI Z.M. — Platelet adhesion under flow. *Microcirculation*, 2009, 16, 58-83.
- [9] NURDEN A.T., NURDEN P. — Advances in our understanding of the molecular basis of disorders of platelet function. *J. Thromb. Haemost.*, 2011, 9 Suppl. 1, 76-91.
- [10] NURDEN P., GOBBI G., NURDEN A., et al. — Abnormal VWF modifies megakaryocytopoiesis : studies of platelets and megakaryocyte cultures from patients with von Willebrand disease type 2B. *Blood*, 2010, 115, 2649-2656.
- [11] NURDEN P., DEBILI N., COUPRY I. et al. — Thrombocytopenia resulting from mutations in filamin A can be expressed as an isolated syndrome. *Blood*, 2011, 118, 5928-5937.
- [12] NURDEN A., VIALLARD J.F., NURDEN P. — New generation drugs that stimulate platelet production in chronic immune thrombocytopenic purpura. *Lancet*, 2009, 373, 1562-1569.
- [13] NURDEN A.T., CAEN J.P. — An abnormal membrane glycoprotein pattern in three cases of Glanzmann's thrombasthenia. *Br. J. Haematol.*, 1974, 28, 253-260.
- [14] COLLER B.S., SHATTIL S.J. — The GPIIb/IIIa (integrin α Ib β 3) odyssey: a technology-driven saga of a receptor with twists, turns, and even a bend. *Blood*, 2008, 112, 3011-3025.
- [15] NURDEN A.T., FIORE M., NURDEN P., PILLOIS X. — Glanzmann thrombasthenia : a review of ITGA2B and ITGB3 defects with emphasis on variants, phenotypic variability, and mouse models. *Blood*, 2011, 118, 5996-6005.
- [16] NURDEN A.T., PILLOIS X., NURDEN P. — Understanding the genetic basis of Glanzmann thrombasthenia : implications for treatment. *Expert Rev Hematol.*, 2012, 5, 487-503.
- [17] FIORE M., PILLOIS X., NURDEN P., et al. — Founder effect and estimation of the age of the French Gypsy mutation associated with Glanzmann thrombasthenia in Manouche families. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2011, 19, 981-987.
- [18] PERETZ H., ROSENBERG N., LANDAU M., et al. — Molecular diversity of Glanzmann thrombasthenia in southern India : new insights into mRNA splicing and structure-function correlations of α Ib β 3 integrin (ITGA2B, ITGB3). *Hum. Mutat.*, 2006, 27, 359-369.
- [19] KANNAN M., AHMAD F., YADAV B.K., et al. — Molecular defects in ITGA2B and ITGB3 genes in patients with Glanzmann thrombasthenia. *J. Thromb. Haemost.*, 2009, 7, 1878-1885.
- [20] NURDEN A.T., MERCIÉ P., ZELY P., NURDEN P. — Deep vein thrombosis, Raynaud's phenomenon, and Prinzmetal angina in a patient with Glanzmann thrombasthenia. *Case Report Hematol.*, 2012, *Epub Dec 31*.
- [21] YE F., KIM C., GINSBERG M.H. — Molecular mechanisms of inside-out integrin regulation. *J. Thromb Haemost.*, 2011, 9 Suppl 1, 20-25.
- [22] RUIZ C., LIU C.Y., SUN Q.H., et al. — A point mutation in the cysteine-rich domain of glycoprotein (GP) IIIa results in the expression of a GPIIb-IIIa (α Ib β 3) integrin receptor locked in a high-affinity state and a Glanzmann thrombasthenia-like phenotype. *Blood*, 2001, 98, 2432-2441.
- [23] MOR-COHEN R., ROSENBERG N., EINAV Y., et al. — Unique disulfide bonds in epidermal growth factor (EGF) domains of β 3 affect structure and function of α Ib β 3 and α V β 3 in a different manner. *J Biol Chem*, 2012, 287, 8879-8891.
- [24] FANG J., JENSEN E.S., BOUDREAU M.K., et al. — Platelet gene therapy improves hemostatic function for integrin α Ib β 3-deficient dogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2011, 108, 9583-9588.
- [25] NURDEN A.T., PILLOIS X., FIORE M., et al. — Glanzmann thrombasthenia-like syndromes associated with macrothrombocytopenias and mutations in the α Ib β 3 integrin. *Semin. Thromb. Hemost.*, 2011, 37, 698-706.

- [26] MA Y.Q., QIN J., PLOW E.F. — Platelet α Ib β 3: activation mechanisms. *J. Thromb. Haemost.*, 2007, 5, 1345-1352.
- [27] BURY L., MALARA A., GRESELE P., BALDUINI A. — Outside-in signalling generated by a constitutively activated integrin α Ib β 3 impairs proplatelet formation in human megakaryocytes. *PLoS One*, 2012, 7, e34449.
- [28] KUIJPERS T.W., VAN DE VIJVER E., WETERMAN M.A., et al. — LAD-1/variant syndrome is caused by mutations in FERMT5. *Blood*, 2009, 113, 4740-4746.
- [29] LEVY-TOLEDANO S., TOBELEM G., LEGRAND C., et al. — Acquired IgG antibody occurring in a thrombasthenic patient : its effect on human platelet function. *Blood*, 1978, 51, 1065-1071.
- [30] HOLLOPETER G., JANTZEN H.M., VINCENT D., et al. — Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature*, 2001, 409, 202-207.
- [31] CATTANEO M. — The platelet P2Y12 receptor for adenosine diphosphate : congenital and drug-induced defects. *Blood*, 2011, 117, 2102-2112.
- [32] ALBERS C.A., CVEJIC A., FAVIER R., et al. — Exome sequencing identifies NBEAL2 as the causative gene for gray platelet syndrome. *Nat. Genet.*, 2011, 43, 735-737.
- [33] ALBERS C.A., PAUL D.S., SCHULZE H., et al. — Compound inheritance of a low-frequency regulatory SNP and a rare null allele in exon-junction complex subunit RBM8A causes TAR syndrome. *Nat. Genet.*, 2012, 44, 435-439.
- [34] NURDEN A.T. — Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost*, 2011, 105 Suppl 1, S13-33.
- [35] NURDEN A.T., NURDEN P., SANCHEZ M., et al. — Platelets and wound healing. *Front. Biosci.*, 2008, 13, 3532-3548.
- [36] VILLENEUVE J., BLOCK A., BOUSSE-KERDILES M.C., et al. — Tissue inhibitors of metalloproteinases in platelets and megakaryocytes : a novel organization for these secreted proteins. *Exp. Hematol.*, 2009, 37, 849-856.
- [37] THON J.N., PETERS C.G., MACHLUS K.R., et al. — T granules in human platelets, function in TLR9 organization and signaling. *J. Cell. Biol.*, 2012, 198, 561-574.
- [38] GUNAY-AYGUN M., FALIK-ZACCAI T.C., VILBOUX T., et al. — NBEAL2 is mutated in gray platelet syndrome and is required for biogenesis of platelet α -granules. *Nat. Genet.*, 2011, 43, 732-734.
- [39] KAHR W.H., HINCKLEY J., LI L., et al. — Mutations in NBEAL2 encoding a beach protein cause gray platelet syndrome. *Nat. Genet.*, 2011, 43, 738-740.
- [40] PATERSON A.D., ROMMENS J.M., BHARAJ B., et al. — Persons with Quebec platelet disorder have a tandem duplication of *PLAU*, the urokinase plasminogen activator gene. *Blood*, 2010, 115, 1264-1266.
- [41] WILCOX D.A., SHI Q., NURDEN P., et al. — Induction of megakaryocytes to synthesize and store a releasable pool of human factor VIII. *J. Thromb. Haemost.*, 2003, 1, 2477-2489.

DISCUSSION

M. Jean-Louis DUFIER

Le signe clinique majeur du syndrome de Hermansky-Pudlak est un albinisme hémorragique. Quelle relation peut-on établir entre les cellules plaquettaires et mélaniques ?

La réponse est simple, plusieurs gènes sont affectés dans ce syndrome (HPS1-9) ; une interférence dans leur expression à la fois dans les mégacaryocytes et dans les cellules de

pigmentation donnera lieu à une absence de granules de nature lysosomiaux, i.e. les granules denses dans les plaquettes et les mélanosomes au niveau du peau, de l'œil et des follicules pileux.

