

## COMMUNICATION

### Les mécanismes moléculaires de l'activation plaquettaire

MOTS-CLÉS : HÉMOSTASE. THROMBOSE. INTÉGRINES. RÉCEPTEURS COUPLÉS AUX PROTÉINES G. GLYCOPROTÉINES

#### *Molecular mechanisms of platelet activation*

KEY-WORDS (Index medicus): HEMOSTASIS. THROMBOSIS. G-PROTEIN-COUPLED. GLYCOPROTEINS

Christian GACHET \*

**L'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.**

#### RÉSUMÉ

*Le rôle majeur des plaquettes sanguines est d'assurer l'intégrité des vaisseaux et l'hémostase primaire, c'est-à-dire l'arrêt du saignement, en cas de brèche vasculaire. Les propriétés mises en jeu dans ces processus physiologiques sont également à l'œuvre lors de la formation des thromboses artérielles, complications redoutables de l'athérosclérose qui peuvent mener à l'occlusion vasculaire. Il s'agit principalement de leur capacité à adhérer à la paroi vasculaire lésée, à s'activer au contact de divers substrats et activateurs solubles et à former des agrégats stabilisés par un réseau de fibrine. Les plaquettes sont également impliquées dans la dissémination métastatique, dans certains processus inflammatoires, dans la défense immunitaire innée et adaptative ainsi que dans le développement embryonnaire. Ces différents rôles des plaquettes sanguines sont assurés par de nombreux mécanismes moléculaires. Certains sont communs à plusieurs fonctions, d'autres sont distincts et les défauts qui peuvent exister sur l'un ou l'autre de ces mécanismes ne perturbent pas nécessairement l'ensemble des fonctions des plaquettes.*

#### SUMMARY

*The main role of blood platelets is to ensure vascular integrity and hemostasis in case of vascular damage. The platelet functions involved in these physiological processes are also at work in arterial thrombosis, which is a dramatic complication of atherosclerosis that may lead to vascular occlusion. These functions of platelets include their ability to adhere to the*

\* UMR\_S949, Inserm, Université de Strasbourg, EFS-Alsace, 10, rue Spielmann — 67065 Strasbourg Cedex ; e-mail : christian.gachet@efs.sante.fr.

*Tirés à part* : Docteur Christian GACHET, même adresse

*Article reçu et accepté le 18 février 2013*

*injured vessel wall, to be activated by contact with various substrates and soluble activators, and to form aggregates stabilized by a fibrin network. Platelets are also involved in metastasis, various inflammatory processes, innate and adaptive immune defenses, and embryonic development. These roles are supported by multiple molecular mechanisms, some of which are common to several functions while others are distinct. Defects in one or other of these mechanisms do not necessarily disrupt all platelet functions.*

## INTRODUCTION

Les plaquettes sanguines sont de petits fragments anucléés, produits à partir des mégacaryocytes de la moelle osseuse. Au repos, elles circulent à raison de 150 à 350 000 plaquettes par  $\mu\text{l}$  de sang sous la forme de petites lentilles discoïdes de près de  $7\ \mu\text{m}$  de diamètre pour un volume moyen de l'ordre de  $10\ \mu\text{m}^3$ . Elles s'activent rapidement au contact d'une paroi vasculaire lésée, changent de forme, émettent de longs filopodes, s'étalent sur la surface, sécrètent le contenu de leurs granules de sécrétion, recrutent des plaquettes circulantes pour former un clou hémostatique, composé principalement de plaquettes mais aussi de fibrine produite au contact des plaquettes activées par la thrombine générée localement (Figure 1). L'ensemble

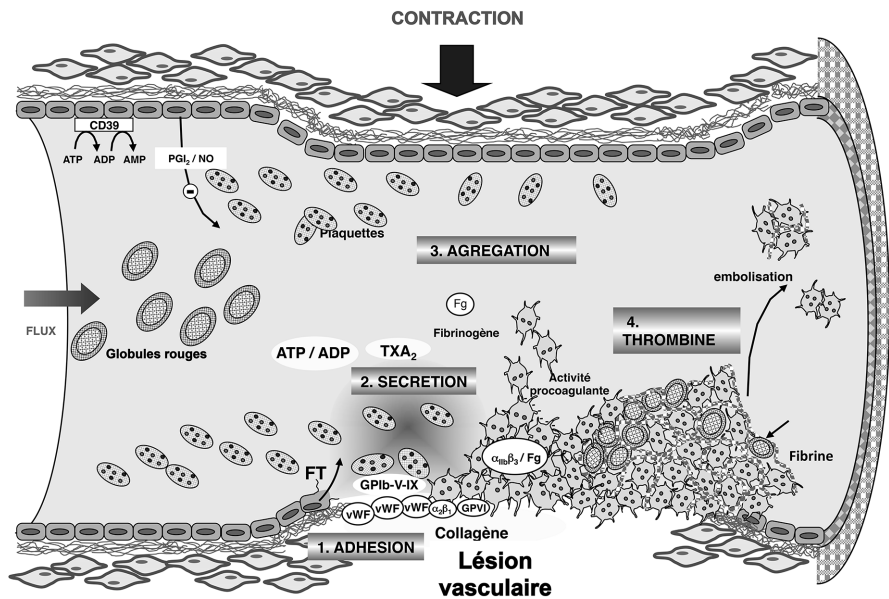


FIG. 1. — Les plaquettes sanguines s'activent rapidement au contact d'une paroi vasculaire lésée, changent de forme, s'étalent sur la surface, sécrètent le contenu de leurs granules de sécrétion, recrutent des plaquettes circulantes pour former un clou hémostatique, composé principalement de plaquettes mais aussi de fibrine produite au contact des plaquettes activées par la thrombine générée localement.

des réponses des plaquettes et du système de l'hémostase primaire se déroule en quelques minutes pour arrêter le saignement. On distingue classiquement plusieurs phases de l'activation plaquettaire à savoir l'adhérence initiale, l'activation au contact de la paroi lésée, la sécrétion et l'amplification de l'activation et, enfin, l'agrégation des plaquettes entre elles. Au cours de ce processus les plaquettes exposent des lipides anioniques à leur surface où les facteurs de la coagulation vont se lier afin de générer les quantités appropriées de thrombine pour renforcer l'activation des plaquettes et induire la coagulation par transformation du fibrinogène insoluble en fibrine. Ces mêmes propriétés sont mises en œuvre lors des thromboses artérielles [1].

## LES GRANDES VOIES DE L'ACTIVATION DES PLAQUETTES SANGUINES

On peut schématiser les grandes voies de l'activation des plaquettes en distinguant celles qui sont impliquées dans les phénomènes d'adhérence et d'activation au contact de la paroi vasculaire lésée et celles qui concourent à l'amplification des réponses et au recrutement de plaquettes circulantes par des médiateurs solubles libérés lors de l'activation (Figure 2).

Les phénomènes d'adhérence font essentiellement intervenir des protéines adhésives comme le collagène, la fibronectine, le facteur de Willebrand, les laminines, le fibrinogène, comme ligands de glycoprotéines membranaires de type intégrines ( $\alpha_{IIb}\beta_3$ ,  $\alpha_2\beta_1$ ,  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_6\beta_1$ ) [2], immuno-récepteurs à motifs ITAM (*immuno-tyrosine based activation motifs*) (GPVI associée à la chaîne  $\gamma$  du récepteur pour les fragments Fc des IgG, CLEC2) [3] ou à motifs riches en leucines (GPIb-V-IX) [4] qui empruntent principalement des voies de signalisation liées à des Src kinases (Fyn, Lyn) qui recrutent la tyrosine kinase Syk qui aboutit, par une série de réactions de phosphorylation de divers substrats et effecteurs à l'activation de la phospholipase  $C\gamma_2$  (PLC $\gamma_2$ ), et la mobilisation des stocks intracellulaires de calcium.

Les médiateurs solubles activent principalement des récepteurs couplés aux protéines G hétérotrimériques (RCPG) qui sont des commutateurs moléculaires de la transduction des signaux. Ces récepteurs ont une structure commune à sept domaines transmembranaires et sont les cibles de nombreux médicaments [5]. Dans les plaquettes, en aval des RCPG, trois voies principales agissent de façon synergique : la voie initiée par la protéine Gq qui active la phospholipase  $\beta$  (PLC $\beta$ ) qui mène à l'activation de protéines kinases C et à la mobilisation des stocks intracellulaires de calcium, la voie  $G_{12/13}$  qui mène à la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine et la voie Gi qui inhibe la formation d'AMP cyclique, second messenger inhibiteur des fonctions plaquettaires, et active la phosphatidylinoside 3-kinase (PI3K) [6].

L'ensemble des voies activatrices convergent et assurent la complétude des réponses des plaquettes à l'ensemble des stimuli rencontrés au niveau de la brèche vasculaire et ceux formés et sécrétés lors des premières étapes pour activer efficacement

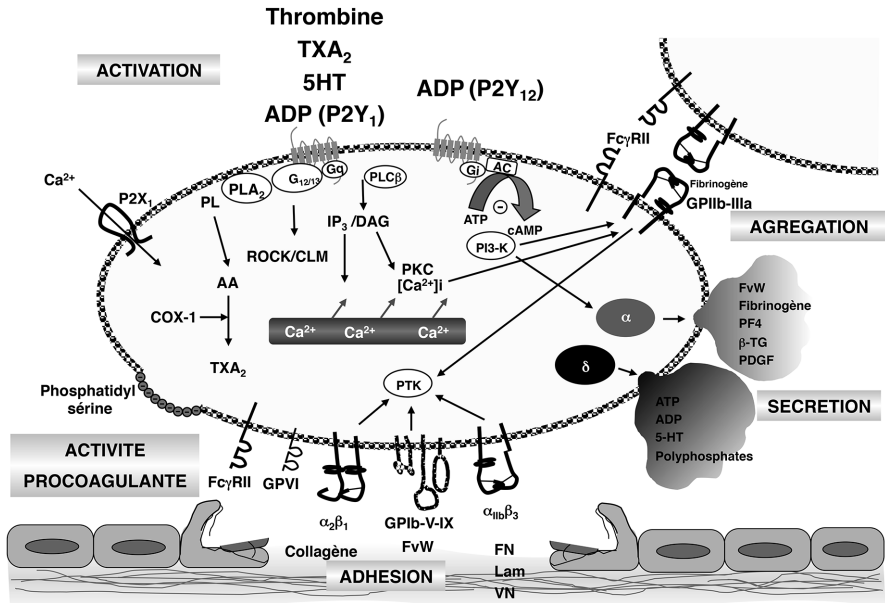


FIG. 2. — On peut schématiser les grandes voies de l'activation des plaquettes les phénomènes d'adhérence et d'activation au contact de la paroi vasculaire lésée et l'amplification des réponses par des médiateurs solubles tels l'ADP, le thromboxane A<sub>2</sub>, ou la sérotonine, libérés lors de l'activation. Les phénomènes d'adhérence font essentiellement intervenir des protéines adhésives comme le collagène, la fibronectine, le facteur de Willebrand, les laminines, le fibrinogène, comme ligands de glycoprotéines membranaires qui empruntent des voies de signalisation qui aboutissent à l'activation de la phospholipase C<sub>γ</sub>2, et la mobilisation des stocks intracellulaires de calcium. Les médiateurs solubles activent principalement des récepteurs couplés aux protéines G hétérotrimériques. Trois voies principales agissent de façon synergique : la voie initiée par la protéine G<sub>q</sub> qui active la phospholipase β qui mène à l'activation de protéines kinases C et à la mobilisation des stocks intracellulaires de calcium, la voie G<sub>12/13</sub> qui mène à la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine et la voie G<sub>i</sub> qui inhibe la formation d'AMP cyclique, second messenger inhibiteur des fonctions plaquettaires, et active la phosphatidylinoside 3-kinase.

l'intégrine  $\alpha_{IIb}\beta_3$ , la fonction coagulante des plaquettes et la formation d'un clou hémostatique stable voire d'une thrombose.

En l'absence de brèche vasculaire, des voies inhibitrices maintiennent les plaquettes dans un état de repos dans la circulation sanguine. Ce sont essentiellement des récepteurs couplés à des protéines G comme les récepteurs de la prostacycline (PGI<sub>2</sub>) ainsi que des immuno-récepteurs à motifs ITIM (*immuno-tyrosine based inhibition motifs*) (PECAM) [7] qui régulent le niveau d'inhibition des plaquettes circulantes. La prostacycline, sécrétée par l'endothélium sain agit en stimulant l'adénylate cyclase et la production intracellulaire d'AMP cyclique dans les plaquettes. De même, le monoxyde d'azote (NO) inhibe les plaquettes en stimulant

une guanylate cyclase et la production de GMP cyclique. Ces nucléotides cycliques activent des kinases spécifiques [8, 9].

## ADHÉRENCE À LA PAROI VASCULAIRE LÉSÉE

Lors d'une brèche vasculaire, de nombreuses protéines du sous-endothélium ainsi que des couches plus profondes du vaisseau sont exposées au sang circulant parmi lesquelles le facteur de Willebrand (vWF), différents types de collagènes, la fibronectine, des laminines, qui chacune interagissent avec des glycoprotéines réceptrices de la membrane des plaquettes. Ces interactions sont régulées en fonction de l'hémodynamique locale et, dans des conditions de flux rapide où les forces de cisaillement à la paroi sont élevées, comme on peut les trouver dans les petites artères, ou dans les vaisseaux sténosés, l'interaction initiale des plaquettes avec le substrat se fait par l'intermédiaire du vWF qui fait le pont entre le complexe glycoprotéique GPIb-V-IX des plaquettes et le collagène du sous-endothélium [10]. Le complexe GPIb-V-IX est composé de quatre sous-unités transmembranaires : la GPIb $\alpha$ , la GPIb $\beta$ , la GPIX et la GPV. La fonction principale de liaison du vWF est portée par la sous-unité GPIb $\alpha$  au niveau de son extrémité N-terminale extracellulaire. La liaison du facteur Willebrand déclenche une signalisation intracellulaire qui entraîne des changements morphologiques des plaquettes avec émission de filopodes et l'activation de l'intégrine  $\alpha_{IIb}\beta_3$  pour favoriser l'étalement et l'adhérence à la paroi lésée. Le complexe GPIb-V-IX participe également à l'activation des plaquettes par la thrombine via la sous-unité GPIb $\alpha$  qui possède un site de liaison pour la thrombine [11]. Dans des systèmes isolés, *in vitro*, cette étape d'interaction entre le vWF et les plaquettes via la GPIb $\alpha$  est réversible et permet aux plaquettes de « rouler » sur une surface de vWF. Le mécanisme de cette interaction rapide et rapidement réversible tient au fait que le vWF adsorbé aux protéines de la paroi lésée prend une conformation particulière qui expose des motifs de liaison spécifiques à la GPIb $\alpha$ , les motifs A1. *In vivo*, cette étape favorise les interactions avec d'autres protéines de la paroi et d'autres récepteurs des plaquettes qui mèneront à leur adhérence stable, leur activation, la mise en route des mécanismes de sécrétion et le recrutement de plaquettes circulantes afin de former le clou hémostatique. Les principales protéines de la matrice sous-endothéliale impliquées dans l'adhérence stable sont le collagène, puissant activateur des plaquettes via deux récepteurs au-moins, la glycoprotéine VI, et l'intégrine  $\alpha_2\beta_1$ , la fibronectine, via l'intégrine  $\alpha_5\beta_1$ , les laminines via l'intégrine  $\alpha_6\beta_1$  et le fibrinogène adsorbé à la paroi lésée, via l'intégrine  $\alpha_{IIb}\beta_3$  [1, 12]. Par ailleurs, le fibrinogène soluble circulant est le ligand majeur de l'intégrine  $\alpha_{IIb}\beta_3$  nécessaire à l'agrégation des plaquettes entre elles. On comprend aisément que l'absence de vWF, du complexe GPIb-IX-V, du fibrinogène ou de l'intégrine  $\alpha_{IIb}\beta_3$  se traduise par un syndrome hémorragique.

## **L'ACTIVATION PAR LES AGONISTES SOLUBLES ET LEURS RÉCEPTEURS**

De nombreux agonistes solubles sont susceptibles d'activer les plaquettes sanguines parmi lesquels les plus importants sont l'adénosine 5'-diphosphate (ADP), le thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), la thrombine et la sérotonine. Ces médiateurs aux effets autocrines et paracrines agissent par l'intermédiaire de RCPG. On compte près de 1 000 à 2 000 copies de ces récepteurs par plaquette, qu'il s'agisse des récepteurs du TXA<sub>2</sub>, de la thrombine ou de la sérotonine. Les récepteurs de l'ADP, quoique très importants, sont moins nombreux.

### *Activation des plaquettes par l'ADP*

L'ADP est contenu à très forte concentration dans les granules denses des plaquettes et sécrété lors de l'activation. Son rôle est à la fois de renforcer l'activation et de stabiliser le clou plaquettaire [13, 14]. Les récepteurs aux nucléotides adényliques sont appelés récepteurs purinergiques P2 [15]. Les plaquettes sanguines possèdent deux récepteurs à l'ADP, P2Y<sub>1</sub> et P2Y<sub>12</sub>, ce dernier étant la cible de puissants médicaments antiplaquettaires tels que les thiéno-pyridines antiagrégantes (ticlopidine, clopidogrel, prasugrel) qui sont des prodrogues et des inhibiteurs directs tels que le cangrelor et le ticagrelor [13]. Ces deux récepteurs sont couplés à deux voies de signalisation distinctes et synergiques.

Le récepteur P2Y<sub>1</sub> est couplé à la protéine Gq, responsable de l'activation des phospholipases C $\beta$  et donc des protéines kinases C et de la mobilisation du calcium intracellulaire. On compte près de 150 copies de ce récepteur par plaquette, dont le signal intracellulaire est relativement faible en comparaison d'autres stimuli. Il est responsable des changements morphologiques induits par l'ADP.

Le récepteur P2Y<sub>12</sub> est couplé à une protéine Gi<sub>2</sub>, responsable de l'inhibition de la formation d'AMP cyclique et, à ce titre, permissive de l'activation plaquettaire [16]. On compte près de 500 à 800 copies de ce récepteur à la surface des plaquettes. L'inhibition de l'activation par l'ADP ou l'absence d'ADP dans les granules (maladie du pool vide) se traduit par une réponse plaquettaire diminuée à toutes les formes de stimulation des plaquettes, que ce soit par la thrombine, le collagène, les immuns complexes.

Le rôle amplificateur des réponses plaquettaires est principalement porté par le récepteur P2Y<sub>12</sub> tandis que le récepteur P2Y<sub>1</sub> régule la réactivité des plaquettes en réponse à l'ADP en se désensibilisant transitoirement [14, 17, 18]. Les voies de signalisation liées à l'amplification de l'activation, en aval de P2Y<sub>12</sub>, comprennent, au-delà de l'inhibition de la formation de l'AMP cyclique, les phosphoinositol-3-kinases (PI3K), des kinases de type AKT, RAP1b, CALDAG-GEFI [19, 20]. Les plaquettes possèdent un troisième récepteur purinergique, P2X<sub>1</sub>, qui est un canal ionique activé par l'ATP. Le rôle précis de ce récepteur dans la physiologie des

plaquettes n'est pas parfaitement connu. Des travaux chez l'animal indiquent une contribution dans la formation des thromboses [21].

#### *La voie du thromboxane A<sub>2</sub>*

Lors de l'activation des plaquettes, les phospholipides de la membrane plasmique sont mis à contribution de diverses façons pour produire des seconds messagers intracellulaires ainsi qu'un agoniste secondaire, le thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>). Le thromboxane A<sub>2</sub>, est un métabolite instable de l'acide arachidonique. L'acide arachidonique, clivé par la phospholipase A<sub>2</sub> lors de l'activation des plaquettes est soumis à l'action de la cyclo-oxygénase qui forme des endoperoxydes substrats de la thromboxane synthétase [22, 23]. Le TXA<sub>2</sub> est à la fois un activateur des plaquettes et un puissant vasoconstricteur. Il se lie avec des récepteurs membranaires spécifiques, les récepteurs TP, qui appartiennent à la classe des récepteurs des prostanoides. Ces récepteurs sont couplés à des protéines G de type Gq et G<sub>12/G13</sub>, responsables de la mobilisation du calcium intracellulaire et de l'activation de la GTPase RhoA responsable notamment des phénomènes contractiles des plaquettes. L'aspirine bloque la synthèse du TXA<sub>2</sub> en inhibant la cyclo-oxygénase.

#### *Activation des plaquettes par la thrombine*

La thrombine est l'activateur le plus puissant des plaquettes sanguines. Là aussi, deux récepteurs couplés aux protéines G sont impliqués dans l'activation des plaquettes par la thrombine, les récepteurs PAR1 et PAR4, PAR signifiant « Protease Activated Receptor » [24]. Le mode d'activation de ces récepteurs est très original puisque c'est la fonction protéolytique de la thrombine qui clive la portion extracellulaire du récepteur formant ainsi une nouvelle portion extracellulaire qui devient l'agoniste sélectif du récepteur ainsi clivé. Le motif minimal du peptide activateur du récepteur PAR1 comporte six acides aminés. Le peptide SFLLRN de synthèse est couramment utilisé pour stimuler directement les récepteurs PAR1 sans qu'il soit nécessaire que le clivage ait eu lieu. Le motif d'activation de PAR4 est GYPGQV. Ces deux récepteurs sont couplés aux protéines Gq et G<sub>12/13</sub>. L'activation des plaquettes par la thrombine ou par les peptides activateurs des PARs induit la sécrétion du contenu granulaire et par voie de conséquence la stimulation de la voie Gi via l'activation du récepteur P2Y<sub>12</sub>. Ces deux récepteurs ne sont pas redondants. L'activation du récepteur PAR4 requiert des concentrations de thrombine plus importantes que PAR1 car il ne possède pas la région mimétique de l'hirudine que l'on trouve dans la portion N-terminale extracellulaire de PAR1. L'hirudine est une petite protéine présente dans la salive de sangsue et dont l'affinité pour la thrombine est très forte. Ce système à deux récepteurs permet sans doute de réguler la qualité de la réponse plaquettaire à la stimulation en fonction des conditions locales de génération de thrombine.

## VOIE FINALE COMMUNE : L'ACTIVATION DE L'INTÉGRINE $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$

L'intégrine  $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$  est l'intégrine majoritaire des plaquettes (on en compte près de 50 000 à 100 000 copies par plaquette) et joue un rôle central dans l'agrégation plaquettaire. Ce rôle est lié à sa capacité à modifier sa conformation d'une forme inactive de basse affinité à une forme de haute affinité pour ses ligands que sont principalement le fibrinogène plasmatique et le vWF, permettant ainsi l'agrégation des plaquettes entre elles. Comme toutes les intégrines, l'intégrine  $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$  a une structure en hétéro dimère d'une sous-unité  $\alpha$  et d'une sous-unité  $\beta$ . En l'occurrence,  $\alpha_{\text{IIb}}$  est une sous-unité restreinte à la lignée mégacaryocytoplaquettaire tandis que la sous-unité  $\beta_3$  est ubiquitaire et est également le partenaire de l'intégrine  $\alpha_{\text{v}}\beta_3$ , récepteur de la vitronectine. Chaque sous-unité est composée d'une grande portion extracellulaire, d'un seul domaine transmembranaire et d'une courte queue cytoplasmique. Les portions intracellulaires proches de la membrane plasmique et les domaines transmembranaires des deux sous-unités forment un complexe qui contraint l'intégrine dans sa conformation de repos. C'est la disjonction de ce complexe qui induit l'activation de l'intégrine et sa capacité à lier le fibrinogène. Ce mécanisme de jonction/disjonction est régulé par de nombreux partenaires de liaison des queues cytoplasmiques parmi lesquels la taline et les protéines de type Kindlin jouent un rôle majeur pour déclencher l'événement ultime d'activation de l'intégrine [25]. Ce processus d'activation est communément appelé « *inside-out signaling* ». Lorsque l'intégrine ainsi modifiée est occupée par ses ligands, d'importants phénomènes de signalisation de l'extérieur vers l'intérieur de la plaquette ont lieu, appelés « *outside-in signaling* », qui ne sont pas moins importants pour la fonction hémostatique des plaquettes. Ces mécanismes régulent les fonctions liées à l'ancrage et à l'étalement des plaquettes aux protéines de matrice de la paroi vasculaire lésée, la stabilité de l'agrégat plaquettaire et le phénomène de rétraction du caillot. Là encore les mécanismes de signalisation font intervenir des tyrosines kinases de type Syk, des Src kinases, des lipides kinases et phosphatases [25].

## RÔLE PROCOAGULANT DES PLAQUETTES SANGUINES

L'activation des plaquettes et la coagulation sanguines sont des phénomènes dynamiques intimement liés et organisés de sorte que la formation d'un clou hémostatique soit localisée au site de la brèche vasculaire. Les plaquettes, fortement stimulées par les premières traces de thrombine combinées au collagène de la paroi vasculaire lésée, subissent une transformation qui mène à une augmentation très importante de la concentration cytoplasmique du calcium et à la rupture de l'asymétrie de distribution des phospholipides de la membrane plasmique avec exposition de phospholipides négatifs, essentiellement la phosphatidylserine, à la surface des plaquettes. Ces phospholipides négatifs sont des cofacteurs nécessaires à la liaison des facteurs de la coagulation et à la formation des complexes tenase et



prothrombinase [26]. Ainsi, les plaquettes les plus activées, que l'on rencontre dans les couches les plus profondes de la paroi lésée sont-elles le siège de l'amplification de la génération de thrombine et le lieu de formation des premières fibres de fibrine qui ancrent le thrombus à la paroi et contribuent à sa stabilité [27]. Le processus d'externalisation de la phosphatidylserine requiert une activité dite « *scramblase* » dont le substrat moléculaire a été identifié récemment. Il s'agit d'une protéine transmembranaire appelée TMEM16F qui forme un canal cationique activé par le calcium [28, 29]. Cette protéine est mutée chez des patients porteurs du syndrome de Scott, maladie hémorragique liée à ce défaut d'exposition de phosphatidylserine [29-31]. Les mécanismes généraux de l'activation des plaquettes sont impliqués à des degrés variables dans l'exposition de phosphatidylserine. En particulier, l'intégrine  $\alpha_{IIb}\beta_3$  et le récepteur P2Y<sub>12</sub> jouent un rôle important via l'activation de la tyrosine kinase Syk d'une part, et de la voie PI3K/Akt/rap1B d'autre part [32, 33]. Enfin, le complexe GPIb-V-IX contribue au rôle procoagulant des plaquettes par des mécanismes non encore tout à fait élucidés [34].

Indépendamment de l'assemblage des facteurs vitamine K dépendants à leur surface, les plaquettes stimulées secrètent d'importantes quantités de polyphosphates inorganiques contenus dans les granules denses. Ces polyphosphates sont des activateurs de la phase dite intrinsèque ou phase contact de la coagulation. Ils activent le Facteur XII, accélèrent l'activation des facteurs XI et V à la surface des plaquettes et, enfin, inhibent les effets anticoagulant de l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI). Cette voie d'activation de la coagulation semble plus importante dans les phénomènes thrombotiques que pour l'hémostase normale. Ces composés sont aussi au carrefour des interactions du système de l'hémostase avec l'inflammation et l'immunité antibactérienne [35, 36].

## **PLAQUETTES, INFLAMMATION ET IMMUNITÉ**

Les systèmes de l'hémostase, de l'inflammation et de l'immunité, à la fois innée et adaptative, sont intimement liés et l'on comprend de mieux en mieux leurs interactions [37]. Les plaquettes activées exposent la P sélectine à la membrane ce qui leur permet de se lier aux polynucléaires neutrophiles, aux monocytes et aux cellules dendritiques [38]. Par ailleurs, les plaquettes activées exposent du CD40L, puissant activateurs de nombre de réponses immunes et de l'endothélium vasculaire [39]. Elles secrètent nombre de cytokines et de chémokines [40]. Enfin, les plaquettes possèdent des récepteurs Toll (TLR), en particulier les TLR2, 4 et 9 [41-43]. Les plaquettes jouent ainsi des rôles variés dans les phénomènes de défense antibactérienne et antiparasitaire, dans l'inflammation, les septicémies, lors de phénomènes de détresse respiratoire ou d'autres syndromes de défaillance viscérale.

## PLAQUETTES ET DÉVELOPPEMENT

Des études récentes ont fait état d'un rôle des plaquettes lors du développement embryonnaire dans la formation des vaisseaux lymphatiques et leur séparation d'avec les vaisseaux sanguins. C'est un immunorécepteur à motifs ITAM, CLEC2, présent sur les plaquettes qui est spécifiquement impliqué dans cette fonction des plaquettes. Le ligand de ce récepteur est une protéine, la podoplanine, que l'on trouve dans les tissus en développement, dans les vaisseaux lymphatiques et dans un certain nombre de tumeurs [29, 44, 45]. Les travaux menés chez des souris déficientes en CLEC2 ou bien chez lesquelles les voies de signalisation en aval de CLEC2, Syk et SLP76 en particulier, ont été invalidées, ont montré que ces animaux ne forment pas normalement leur réseau de vaisseaux lymphatiques. Par ailleurs, l'activation des plaquettes par la podoplanine semble être un des mécanismes importants par lesquels les plaquettes participent à la dissémination métastatique [46].

## CONCLUSION

On le voit, les rôles des plaquettes sont multiples et les mécanismes moléculaires qui les régissent nombreux et intriqués, même si l'on peut distinguer des voies principales. Il est remarquable que la plupart des patients porteurs de thrombopathies majeures liées à des défauts de gènes spécifiques de la lignée mégacaryocytoplaquettaire ne souffrent pas nécessairement d'autres maladies. En revanche, chez les sujets dont les mutations concernent des protéines plus ubiquitaires, le tableau est souvent complexe et associe différentes pathologies. C'est le cas par exemple des défauts immunitaires sévères comme les Déficiences d'Adhésion Leucocytaires de type 3 qui résultent d'un défaut de molécules impliquées dans l'activation des intégrines [47-49]. On peut gager que les années à venir verront émerger, au-delà des médications antithrombotiques, de nouvelles cibles plaquettaires pour des interventions pharmacologiques dans des domaines aussi variés que les défenses contre les pathogènes, le sepsis et la dissémination métastatique.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] VERSTEEG H.H., HEEMSKERK J.W., LEVI M., REITSMA P.H. — New fundamentals in hemostasis. *Physiological reviews*, 2013, 93, 327-358.
- [2] HYNES R.O. — Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*, 2002, 110, 673-687.
- [3] BOULAFTALI Y., HESS P.R., GETZ T.M., CHOLKA A. *et al.* — Platelet ITAM signaling is critical for vascular integrity in inflammation. *The Journal of clinical investigation*, 2013.
- [4] LANZA F., GACHET C., DAVID T., MANGIN P. — Signalisation *via* le complexe GPIb-V-IX plaquettaire. Signalling through the platelet GPIb-V-IX complex. *Hématologie*, 2008, 14, 273-284.

- [5] Nature Reviews Drug Discovery G.Q.P. — The state of GPCR research in 2004. *Nature reviews Drug discovery*, 2004, 3, 575, 577-626.
- [6] OFFERMANN S. — Activation of platelet function through G protein-coupled receptors. *Circulation research*, 2006, 99, 1293-1304.
- [7] FALATI S., PATIL S., GROSS P.L., STAPLETON M. *et al.* — Platelet PECAM-1 inhibits thrombus formation *in vivo*. *Blood*, 2006, 107, 535-541.
- [8] SCHWARZ U.R., WALTER U., EIGENTHALER M. — Taming platelets with cyclic nucleotides. *Biochemical pharmacology*, 2001, 62, 1153-1161.
- [9] WALTER U., GAMBARYAN S. — cGMP and cGMP-dependent protein kinase in platelets and blood cells. *Handbook of experimental pharmacology*, 2009, 533-548.
- [10] RUGGERI Z.M. — The role of von Willebrand factor in thrombus formation. *Thrombosis research*, 2007, 120 Suppl 1, S5-9.
- [11] RUGGERI Z.M., ZARPELLON A., ROBERTS J.R., MC CLINTOCK R.A. *et al.* — Unravelling the mechanism and significance of thrombin binding to platelet glycoprotein Ib. *Thrombosis and haemostasis*, 2010, 104, 894-902.
- [12] JACKSON S.P. — Arterial thrombosis-insidious, unpredictable and deadly. *Nature medicine*, 2011, 17, 1423-1436.
- [13] GACHET C. — P2 receptors, platelet function and pharmacological implications. *Thrombosis and haemostasis*, 2008, 99, 466-472.
- [14] GACHET C. — Regulation of platelet functions by P2 receptors. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 2006, 46, 277-300.
- [15] ABBRACCHIO M.P., BURNSTOCK G., BOEYNAEMS J.M., BARNARD E.A. *et al.* — International Union of Pharmacology LVIII: update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacological reviews*, 2006, 58, 281-341.
- [16] OHLMANN P., LAUGWITZ K.L., NURNBERG B., SPICHER K. *et al.* — The human platelet ADP receptor activates Gi2 proteins. *The Biochemical journal*, 1995, 312 (Pt 3), 775-779.
- [17] BAURAND A., ECKLY A., BARI N., LEON C. *et al.* — Desensitization of the platelet aggregation response to ADP: differential down-regulation of the P2Y1 and P2cyc receptors. *Thrombosis and haemostasis*, 2000, 84, 484-491.
- [18] BAURAND A., ECKLY A., HECHLER B., KAUFFENSTEIN G. *et al.* — Differential regulation and relocalization of the platelet P2Y receptors after activation: a way to avoid loss of hemostatic properties? *Molecular pharmacology*, 2005, 67, 721-733.
- [19] TRUMEL C., PAYRASTRE B., PLANTAVID M., HECHLER B. *et al.* — A key role of adenosine diphosphate in the irreversible platelet aggregation induced by the PAR1-activating peptide through the late activation of phosphoinositide 3-kinase. *Blood*, 1999, 94, 4156-4165.
- [20] STEFANINI L., RODEN R.C., BERGMEIER W. — CalDAG-GEFI is at the nexus of calcium-dependent platelet activation. *Blood*, 2009, 114, 2506-2514.
- [21] HECHLER B., LENAIN N., MARCHESE P., VIAL C. *et al.* — A role of the fast ATP-gated P2X1 cation channel in thrombosis of small arteries *in vivo*. *The Journal of experimental medicine*, 2003, 198, 661-667.
- [22] DAVI G., PATRONO C. — Platelet activation and atherothrombosis. *The New England journal of medicine*, 2007, 357, 2482-2494.
- [23] FELETOU M., VANHOUTTE P.M., VERBEUREN T.J. — The thromboxane/endoperoxide receptor (TP): the common villain. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 2010, 55, 317-332.
- [24] COUGHLIN S.R. — Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. *Journal of thrombosis and haemostasis*, 2005, 3, 1800-1814.

- [25] COLLIER B.S., SHATTIL S.J. — The GPIIb/IIIa (integrin alphaIIb beta3) odyssey: a technology-driven saga of a receptor with twists, turns, and even a bend. *Blood*, 2008, 112, 3011-3025.
- [26] HEEMSKERK J.W., MATTHEIJ N.J., COSEMANS J.M. — Platelet-based coagulation: different populations, different functions. *Journal of thrombosis and haemostasis*, 2013, 11, 2-16.
- [27] HECHLER B., NONNE C., ECKLY A., MAGNENAT S. *et al.* — Arterial thrombosis: relevance of a model with two levels of severity assessed by histologic, ultrastructural and functional characterization. *Journal of thrombosis and haemostasis*, 2010, 8, 173-184.
- [28] YANG H., KIM A., DAVID T., PALMER D. *et al.* — TMEM16F forms a Ca<sup>2+</sup> activated cation channel required for lipid scrambling in platelets during blood coagulation. *Cell*, 2012, 151, 111-122.
- [29] SUZUKI J., UMEDA M., SIMS P.J., NAGATA S. — Calcium-dependent phospholipid scrambling by TMEM16F. *Nature*, 2010, 468, 834-838.
- [30] ZWAAL R.F., COMFURIUS P., BEVERS E.M. — Scott syndrome, a bleeding disorder caused by defective scrambling of membrane phospholipids. *Biochimica et biophysica acta*, 2004, 1636, 119-128.
- [31] CASTOLDI E., COLLINS P.W., WILLIAMSON P.L., BEVERS E.M. — Compound heterozygosity for 2 novel TMEM16F mutations in a patient with Scott syndrome. *Blood*, 2011, 117, 4399-4400.
- [32] GACHET C. — P2Y(12) receptors in platelets and other hematopoietic and non-hematopoietic cells. *Purinergic signalling*, 2012, 8, 609-619.
- [33] VAN DER MEIJDEN P.E., FEIJGE M.A., SWIERINGA F., GILIO K. *et al.* — Key role of integrin alpha(IIb)beta(3) signaling to Syk kinase in tissue factor-induced thrombin generation. *Cellular and molecular life sciences*, 2012, 69, 3481-3492.
- [34] RAVANAT C., STRASSEL C., HECHLER B., SCHUHLER S. *et al.* — A central role of GPIb-IX in the procoagulant function of platelets that is independent of the 45-kDa GPIbalpha N-terminal extracellular domain. *Blood*, 2010, 116, 1157-1164.
- [35] CAEN J., WU Q. — Hageman factor, platelets and polyphosphates: early history and recent connection. *Journal of thrombosis and haemostasis*, 2010, 8, 1670-1674.
- [36] MORRISSEY J.H., CHOI S.H., SMITH S.A. — Polyphosphate: an ancient molecule that links platelets, coagulation, and inflammation. *Blood*, 2012, 119, 5972-5979.
- [37] SEMPLE J.W., ITALIANO J.E., JR., FREEDMAN J. — Platelets and the immune continuum. *Nature reviews Immunology*, 2011, 11, 264-274.
- [38] MAITRE B., MANGIN P.H., ECKLY A., HEIM V. *et al.* — Immature myeloid dendritic cells capture and remove activated platelets from preformed aggregates. *Journal of thrombosis and haemostasis*, 2010, 8, 2262-2272.
- [39] ELZEY B.D., RATLIFF T.L., SOWA J.M., CRIST S.A. — Platelet CD40L at the interface of adaptive immunity. *Thrombosis research*, 2011, 127, 180-183.
- [40] VON HUNDELSHAUSEN P., WEBER C. — Platelets as immune cells: bridging inflammation and cardiovascular disease. *Circulation research*, 2007, 100, 27-40.
- [41] BERTHET J., DAMIEN P., HAMZEH-COGNASSE H., POZZETTO B. *et al.* — Toll-like receptor 4 signal transduction in platelets: novel pathways. *British journal of haematology*, 2010, 151, 89-92.
- [42] COGNASSE F., HAMZEH H., CHAVARIN P., ACQUART S. *et al.* — Evidence of Toll-like receptor molecules on human platelets. *Immunology and cell biology*, 2005, 83, 196-198.
- [43] GARRAUD O., COGNASSE F. — Platelet Toll-like receptor expression: the link between “ danger ” ligands and inflammation. *Inflammation & allergy drug targets*, 2010, 9, 322-333.
- [44] BERTOZZI C.C., SCHMAIER A.A., MERICKO P., HESS P.R. *et al.* — Platelets regulate lymphatic vascular development through CLEC-2-SLP-76 signaling. *Blood*, 2010, 116, 661-670.

- [45] FINNEY B.A., SCHWEIGHOFFER E., NAVARRO-NUNEZ L., BENEZECH C. *et al.* — CLEC-2 and Syk in the megakaryocytic/platelet lineage are essential for development. *Blood*, 2012, 119, 1747-1756.
- [46] SUZUKI-INOUE K. — Essential *in vivo* roles of the platelet activation receptor CLEC-2 in tumour metastasis, lymphangiogenesis and thrombus formation. *Journal of biochemistry*, 2011, 150, 127-132.
- [47] BERGMEIER W., GOERGE T., WANG H.W., CRITTENDEN J.R. *et al.* — Mice lacking the signaling molecule CalDAG-GEFI represent a model for leukocyte adhesion deficiency type III. *The Journal of clinical investigation*, 2007, 117, 1699-1707.
- [48] PASVOLOSKY R., FEIGELSON S.W., KILIC S.S., SIMON A.J. *et al.* — A LAD-III syndrome is associated with defective expression of the Rap-1 activator CalDAG-GEFI in lymphocytes, neutrophils, and platelets. *The Journal of experimental medicine*, 2007, 204, 1571-1582.
- [49] ROBERT P., CANAULT M., FARNARIER C., NURDEN A. *et al.* — A novel leukocyte adhesion deficiency III variant: kindlin-3 deficiency results in integrin- and nonintegrin-related defects in different steps of leukocyte adhesion. *Journal of immunology*, 2011, 186, 5273-5283.

