

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

ANNEE: 2017

THESE N°: 132

**LE SYNDROME DE BERNARD-SOULIER
AVANCEES RECENTES**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mr. Youness BOUKAICI
Né le 29 Mars 1991 à Guercif

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Syndrome de Bernard-Soulier – Dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale – Le complexe GPIb-IX-V

JURY

Mme. M. NAZIH	PRESIDENTE
Professeur d'Hématologie Biologique	
Mr. A. MASRAR	RAPPORTEUR
Professeur d'Hématologie Biologique	
Mr. A. DAMI	
Professeur de Biochimie	
Mme. S. BENKIRANE	
Professeur d'Hématologie Biologique	

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِيْمِ

سُبْحَانَهُ لَا عِلْمٌ لَنَا إِلَّا مَا عَلِمْتَنَا
إِنَّهُ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْعَكِيرُ

31 سورة البقرة: الآية

الصَّدِيقُ
الْعَظِيْمُ



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

DOYENS HONORAIRES :

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



ADMINISTRATION :

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

1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS

ET
PHARMAICIENS

PROFESSEURS :

Décembre 1984

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

Novembre et Décembre 1985

- Pr. BENSAID Younes
Pathologie Chirurgicale

Janvier, Février et Décembre 1987

- Pr. CHAHED OUAZZANI Houria
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUI Mohamed
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

- Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Chirurgie Pédiatrique
Radiologie

Décembre 1989

- Pr. ADNAOUI Mohamed
Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**

Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Janvier et Novembre 1990

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

Pathologie Chirurgicale
Neurologie

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

Février Avril Juillet et Décembre 1991

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

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation –Doyen de la FMPO
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – Dir. du Centre National PV
Chimie thérapeutique V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC

Décembre 1992

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

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques Doyen de la FMPA
Gynécologie Obstétrique
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- Directeur CHIS



Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Gynécologie – Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

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

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - *Directeur HMI Med V*
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

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

Radioologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie



Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Noureddine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TAOUIFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*

Gastro-Entérologie
Neurologie – **Doyen de la FMP Abulcassis**
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie
Cardiologie

Janvier 2000

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

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie- **Dir. Hop. Av. Marr.**
Anesthésie-Réanimation **Inspecteur du SSM**
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne



Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie **Directeur Hop. Chekikh Zaied**
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

Décembre 2001

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

ORL

Anesthésie-Réanimation
 Neurologie
 Néphrologie
 Pneumo-phtisiologie
 Gastro-Entérologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Rhumatologie
 Anatomie
 Radiologie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie Directeur. Hop.d'Enfants
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Urologie Directeur Hôpital Ibn Sina
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie



Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 Pr. AMEUR Ahmed *
 Pr. AMRI Rachida
 Pr. AOURARH Aziz*
 Pr. BAMOU Youssef*
 Pr. BELMEJDOUN Ghizlene*
 Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie

Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISI Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophysiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADJI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Noureddine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radioologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Cardiologie
Ophtalmologie



Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Biophysique
Microbiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

(mise en disponibilité)

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

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

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



Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUPA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUIF Sarra

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie

Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia

Anesthésie réanimation Directeur ERSM
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo ptisiologie
Hématologique biologique
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie



Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie

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

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*

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



Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie

Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anatomie pathologique

Mai 2012

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

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

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
0.
Pr. BENSGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHOLOUF Samir
Pr. EL KORAICHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERRGUIG Laila

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie
Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie



Pr. FIKRI Meryim	Radiologie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed*	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed*	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim*	Ophtalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua*	Gastro-Entérologie
Pr. SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan*	Gastro-Entérologie
Pr. ZERHOUNI Hicham	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ZINE Ali*	Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

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

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

*Enseignants Militaires



MARS 2014

ACHIR ABDELLAH
BENCHAKROUN MOHAMMED
BOUCHIKH MOHAMMED
EL KABBAJ DRISS
EL MACHTANI IDRISI SAMIRA
HARDIZI HOUYAM
HASSANI AMALE
HERRAK LAILA
JANANE ABDELLA TIF
JEAIDI ANASS
KOUACH JAOUAD
LEMNOUER ABDELHAY
MAKRAM SANAA
OULAHYANE RACHID
RHISSASSI MOHAMED JMFAR
SABRY MOHAMED
SEKKACH YOUSSEF
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Génécologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Cardiologie
Médecine Interne
Génécologie-Obstétrique

***Enseignants Militaires**

DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'
AIT BOUGHIMA FADILA
BEKKALI HICHAM
BENAZZOU SALMA
BOUABDELLAH MOUNYA
BOUCHRIK MOURAD
DERRAJI SOFIANE
DOBLALI TAOUIK
EL AYOUBI EL IDRISI ALI
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM
EL MARJANY MOHAMMED
FEJJAL NAWFAL
JAHIDI MOHAMED
LAKHAL ZOUHAIR
OUDGHIRI NEZHA
Rami Mohamed
SABIR MARIA
SBAI IDRISI KARIM

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

***Enseignants Militaires**



AOUT 2015

Meziane meryem
Tahri latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE
EL ASRI FOUAD
ERRAMI NOUREDDINE
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

2- ENSEIGNANTS – CERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima
Pr. ALAOUI KATIM
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
Pr. ANSAR M'hammed
Pr. BOUHOUCHE Ahmed
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
Pr. BOURJOUANE Mohamed
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia
Pr. DAKKA Taoufiq
Pr. DRAOUI Mustapha
Pr. EL GUESSABI Lahcen
Pr. ETTAIB Abdelkader
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
Pr. HAMZAoui Laila
Pr. HMAMOUCHI Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISI Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

Physiologie
Biochimie – chimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Génétique Humaine
Applications Pharmaceutiques
Microbiologie
Biochimie – chimie
Physiologie
Chimie Analytique
Pharmacognosie
Zootechnie
Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biologie moléculaire
Biologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

*Mise à jour le 14/12/2016 par le
Service des Ressources Humaines*



DEDICACES

*Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a ouvert
la porte du savoir et m'a aidé à la franchir.*

Je dédie mon travail :

À MES TRÈS CHERS PARENTS : SGHIR ET FATIMA

C'est pour moi un jour d'une grande importance, car je sais que vous êtes à la fois fières et heureux de me voir, grâce au DIEU puis vos conseils et vos efforts inlassables, accomplir ma formation et concrétiser mon rêve.

Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur ; l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour vous et pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Papa : Tu m'as toujours incité à étudier, tu as su m'entourer d'attention, m'implanter les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité.

Maman : Tes prières ont été pour moi un grand soutien tout au long de mes études, ton amour et ta présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon existence et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit indice de ma gratitude et que Dieu, le Très Haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

*À LA MÉMOIRE DE MES GRAND-PÈRES
ET GRAND MÈRES*

*J'aurais tant aimé que vous soyez présents.
Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde.*

*À MES TRÈS CHERES SŒURS : Maria, Soumia, Fadoua et la petite
Khaoula*

Vous avoir toutes à mes côtés est le baume de mon existence.

*Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amour et de la gratitude
pour l'épaule inconditionnelle que vous représentez pour moi.*

*Je ne saurais exprimer mes sentiments fraternels et chers que j'éprouve
pour vous toutes.*

Que dieu vous protège et consolide les liens sacrés qui nous unissent.

A MES CHERS neveu et nièces : ANASS, SARA ET HIND

*Votre existence dans la famille nous apporte de la joie et le bonheur
Que DIEU vous protèges et vous accorde santé et bénédiction.*

*A MES TRES CHERS : TANTES ROUKAYA ET YAMINA, ABOUD
ET MES COUSINS :*

*Nulle dédicace ne saurait exprimer mon amour, l'estime et l'affection
que j'ai pour vous.*

*Je vous dédie ce travail en guise de remerciement pour vos
encouragements qui m'ont toujours poussé à donner le meilleur de moi-
même.*

A la famille LABLAK et LOUBANE

*Je vous remercie pour tout ce que vous avez fait pour moi, je vous en
serais à jamais reconnaissant.*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon affection, ma
reconnaissance et mon grand attachement.*

A MES AMI(E)S DE TOUJOURS

En souvenir des moments merveilleux que nous avons passés et aux liens solides qui nous unissent. Un grand merci pour votre soutien, vos encouragements, votre aide. J'ai trouvé en vous le refuge de mes chagrins et mes secrets. Avec toute mon affection et estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur, autant dans votre vie professionnelle que privée. Je prie Dieu pour que notre amitié et fraternité soient éternelles...

*UNE SPÉCIALE DÉDICACE A CETTE PERSONNE QUI COMpte
ÉNORMÉMENT POUR MOI, ET POUR QUI JE PORTE
BEAUCOUP DE TENDRESSE ET DE RESPECT.*

*À TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPÉ A
L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL À TOUS CŒUX QUE J'AI
OMIS DE CITER,*

REMERCIEMENTS

À NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENTE DE THÈSE

MADAME LE PROFESSEUR NAZIH MOUNA

PROFESSEUR AGRÉGÉ D'HÉMATOLOGIE

En présidant ce jury, vous nous faites un grand honneur, Vos qualités humaines et professionnelles sont exemplaires. Nous vous prions de croire en l'expression de notre respect et reconnaissance d'avoir accepté de présider et juger ce travail.

*À NOTRE MAITRE ET RAPPORTEUR DE THÈSE MONSIEUR
AZLARAB MASRAR
PROFESSEUR D'HÉMATOLOGIE BIOLOGIQUE*

Vous m'avez honoré par votre confiance en m'accordant ce sujet de travail.

Mais avant c'est pour moi une fierté et de la chance d'être votre étudiant aussi bien à l'amphi qu'au service de l'hématologie au CHU Ibn Sina à Rabat, et de profiter de votre savoir

Les conseils fructueux que vous nous avez prodigué ont été très précieux, nous vous en remercions. Votre bonté, votre modestie, votre compréhension, ainsi que vos qualités scientifiques et professionnelles ne peuvent que susciter notre grande estime et profond respect. Veuillez trouver ici, l'assurance de notre reconnaissance et notre profonde admiration.

*À NOTRE MAITRE ET JUGE DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR DAMI ABDALLAH
PROFESSEUR AGRÉGÉ DE BIOCHIMIE*

C'est pour nous un immense plaisir de vous voir siéger parmi le jury de notre thèse. Nous avons eu la chance et le privilège d'être parmi vos étudiants et de profiter de votre enseignement de qualité et de votre sagesse.

Que ce travail soit un témoignage de notre profonde gratitude.

*À NOTRE MAITRE ET JUGE DE THÈSE
MADAME LE PROFESSEUR BENKIRANE SOUAD
PROFESSEUR D'HÉMATOLOGIE*

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail.

Nous avons eu le privilège de profiter de votre savoir au service de l'hématologie au CHU Ibn Sina – Rabat - .

Nous avons apprécié votre sympathie et vos qualités humaines.

C'est pour nous l'occasion de vous témoigner estime et respect.

*LISTE DES
ILLUSTRATIONS*

LISTE DES ABREVIATIONS

ACD	: Acide citrique, citrate, dextrose
AcMx	: Anticorps monoclonaux
ADP	: Adénosinediphosphate
BSS	: Syndrome de Bernard Soulier
Ca	: Calcium
Cellules CHO	: Cellules d' <u>ovaires</u> de <u>hamster de Chine</u>
CPA	: Concentré de plaquettes d'aphérèse
CPS	: Concentré de plaquettes standard
CTAD	: Citrate, théophylline, adénosine, dipyridamol
DDAVP	: Desmopressine
DGS	: Le syndrome de DiGeorge
EDTA	: Ethylène diamine tétraacétique
FT	: Facteur tissulaire
FVW	: Facteur de Von Willebrand
GPIb/IX/V	: Glycoprotéine Ib/IX/V
GPIIb/IIIa	: Glycoprotéine IIb/IIIa
Ig IV	: Les immunoglobulines polyvalentes humaines à usage intraveineux
MYH9	: Syndrome de may hegglin
PCR-SSCP	: Polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism
PDB	: Protein Data Bank
PFA-100	: Temps d'occlusion plaquettaire
PRP	: Plasma riche en plaquettes
rFVIIa	: Facteur VII recombinant activé
SDS	: Dodécylsulfate de sodium
SSCP	: La single strand conformation polymorphism
TG	: Thrombasthénie de Glanzmann
TS	: Temps de saignement
VCFS	: Le syndrome vélo-cardio-facial
VMP	: Volume moyen plaquettaire

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Elément figurés du sang, image de microscopie électronique	5
Figure 2 : a) l'aspect discoïde des plaquettes au repos. b) plaquettes activées	6
Figure 3 : Ultrastructure de plaquettes sanguines par microscopie électronique.....	7
Figure 4 : Glycocalix périplaquettaire	8
Figure 5 : Représentation schématique d'une plaquette sanguine	12
Figure 6: Schéma de l'adhésion plaquettaire au sous-endothélium	14
Figure 8 : image de la ballonisation sphère lors du changement de la forme.....	15
Figure 7 : image de l'émission de pseudopodes lors du changement de la forme.....	15
Figure 9 : Image illustrant la sécrétion plaquettaire	16
Figure 10 : Image illustrant la formation de l'agrégat plaquettaire	17
Figure 11 : Structure du complexe GP Ib-IX-V	20
Figure 12 : Partenaires intracellulaires directs et indirects du	23
Figure 13 : Structures des gènes codant pour les 4 polypeptides du complexe GP Ib-IX-V....	26
Figure 14 : La maturation du complexe GPIb-IX-V	28
Figure 15 : la dégradation intracellulaire de la GP Iba	29
Figure 16 : Les interactions entre les polypeptides du complexe	32
Figure 17 : Structure du pré-pro-VWF (précurseur monomérique) avec la localisation des sites fonctionnels d'interaction du VWF	34
Figure 18 : Un schéma simple montrant comment l'interaction entre GPIba et VWF peut se produire après l'activation du récepteur et / ou du ligand ce qui entraîne une "conformation" compatible.....	35
Figure 19 : les domaines liants de GP Iba	37
Figure 20 : un modèle « toggle switch » explique la régulation de la liaison de la GP Ib/IX/V au FVW	40

Figure 21 : Le processus de signalisation induit par le GP Ib/IX/V conduisant à l'activation de GP IIb-IIIa	51
Figure 22 : Carte montrant les emplacements des mutations dans les régions codantes de GPIba, GPIb β et GPIX.	65
Figure 23 : Mutations faux-sens entraînant un complexe glycoprotéine (GP) Ib / IX / V dysfonctionnel.....	68
Figure 24 : Effet des mutations faux-sens sur le repliement des protéines.....	74
Figure 25: Les manifestations cliniques du syndrome de Bernard et Soulier	75
Figure 26 : Histogramme de la distribution du volume plaquettaire.....	82
Figure 27 : A : Agrégats de plaquettes sur frottis sanguin (adulte sain). B : plaquettes géantes de la maladie de Bernard et Soulier	83
Figure 28 : La méthode d'Ivy incision	84
Figure 29 : Le principe du PFA-100, ainsi qu'un schéma pour l'agrégation plaquettaire in vivo	86
Figure 30 : Anomalies d'agrégation plaquettaire dues au syndrome de Bernard-Soulier	87
Figure 31 : Le principe fonctionnel d'un cytomètre de flux	89
Figure 32 : L'analyse cytométrique en flux de l'expression des antigènes de surface plaquettaires CD41a (GPIIb), CD42b (GPIba) et CD61 (GPIIIa) permet de comparer des échantillons de sang périphérique d'un contrôle normal (A à D) et d'un patient atteint du syndrome de Bernard-Soulier (E à H).	91
Figure 33 : Tracés de la cytométrie en flux avec des Ac. monoclonaux contre GPIIb / IIIa, GPIba (SZ2 et MB45, l'Ac monoclonal conformation-dépendant et indépendant, respectivement), GPIX et GPV de 3 patients.....	92
Figure 34 : Moyenne des résultats de cytométrie en flux des GP de la membrane plaquettaire chez les patients de chaque groupe (voir la légende de la figure précédente).	93
Figure 35 : Un algorithme pour l'exploration moléculaire d'un patient suspect BSS	95

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales protéines de la membrane plaquettaire	10
Tableau 2 : Principales thrombopénies constitutionnelles. Classification en fonction de la taille des plaquettes et du caractère isolé ou syndromique	57

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
I. RAPPELS PHYSIOLOGIQUES	4
A. LES PLAQUETTES SANGUINES	5
1. Morphologie des Plaquettes	6
2. Structure et Anatomie Fonctionnelle	7
3. Fonctions Plaquettaires	13
B. LE COMPLEXE GP IB/IX/V (CD 42)	19
1. Structure	19
2. La Synthèse : Du Gène Aux Protéines	25
3. Interactions Entre Les Polypeptides Du Complexe GP Ib-IX-V	30
4. Fonctions	33
II. LE SYNDROME DE BERNARD – SOULIER (BSS).....	53
A. DEFINITION ET HISTOIRE DE DECOUVERTE	54
B. LA PLACE DU BSS PARMI LES AUTRES THROMBOPATHIES CONSTITUTIONNELLES.....	56
C. TRANSMISSION ET VARIANTS	58
1. Forme typique	58
2. Formes variantes	58
D. PREVALENCE ET STATISTIQUES	60
E. LA GENETIQUE DU BSS	63
1. Les Mutations A L'origine Du BSS Typique	66
2. Les Mutations A L'origine Des Variante-Type De BSS Et La Maladie	67
Pseudo-Von Willebrand	67
3. Les Mutations Fondatrices Du BSS (Founder Mutations)	69
4. Les Conséquences Biologiques Des Mutations BSS Sur Le Complexe GP IB/IX/V ..	71
F. LE PHENOTYPE DU BSS	75
1. Les Manifestations Cliniques Du Syndrome	75

2. Le Syndrome De Bernard-Soulier Et La Grossesse	77
3. La Relation Du Génotype Et La Sévérité De Saignement	78
G. DIAGNOSTIC CLINICO-BIOLOGIQUE	80
1. Interrogatoire Et L'examen Somatique	80
2. L'exploration Biologique	81
a) Les examens de première intention	81
(1) Numération plaquettaire	81
(2) Etude morphologique par coloration classique May-Grünwald-Giemsa (MGG)	83
(3) Temps de saignement (TS)	84
b) Les examens de la seconde intention	85
(1) Les épreuves fonctionnelles plaquettaires	85
(a) Temps d'occlusion	85
(b) Le test d'agrégation plaquettaire	86
(2) Test de confirmation	87
(a) La cytométrie en flux sur sang total	87
(b) L'électrophorèse sur gel et Western Blot (technique des immunoempreintes)	93
c) Test supplémentaire	94
(1) Biologie moléculaire	94
3. Diagnostic Anténatal	95
H. LE DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL	96
1. L'anomalie De May-Hegglin	96
2. Le Syndrome Des Plaquettes Grises	96
3. La Maladie De Von Willebrand	97
4. Purpura Thrombopénique Immunologique (PTI)	97
I. LE SYNDROME DE BERNARD-SOULIER ACQUIS	98
J. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE	99

1. Mesures Préventives	99
2. Traitement Spécifique A Visé Curatif	100
a) Transfusion de plaquettes.....	100
3. Traitements Adjuvants	101
a) Antifibrinolytiques	101
b) La desmopressine	102
c) Hémostatiques à usage local	103
d) Le facteur VIIa activé (FVIIa) (Novoseven®)	103
e) Prise en charge par les hormones féminines et pendant la grossesse	104
4. Autres Thérapies	105
a) Splénectomie	105
b) Greffe de moelle osseuse	105
c) Les Thérapies futures	106
5. Conseil Génétique	106
CONCLUSION	107
RESUME	
BIBLIOGRAPHIE	

INTRODUCTION

Décrise pour la première fois en 1948 par Jean Bernard et Jean-Pierre Soulier. Le syndrome de Bernard Soulier (BSS), dit aussi la dystrophie hémorragipare congénitale, est une thrombopathie hémorragique liée à un déficit génétique, quantitatif (BSS classique) ou qualitatif (BSS non classique), en glycoprotéine (GP) Ib-IX-V, démontré sur électrophorèse bidimensionnelle et/ou par cytométrie en flux; ce complexe glycoprotéique de la membrane plaquettaire joue un rôle essentiel dans l'hémostase primaire en tant que récepteur du facteur von-Willebrand (VWF) [1-4]. Il en résulte un défaut d'adhésion plaquettaire au sous-endothélium vasculaire à cause d'une diminution d'interaction avec le VWF [5]. C'est une pathologie très rare avec une prévalence estimée à 1/1000000 dans les populations d'Europe, d'Amérique du nord et du japon [3, 7]. Toutefois, cette prévalence serait sous-estimée à cause des diagnostiques erronés et d'une couverture insuffisante.

Cliniquement, la maladie se manifeste par un syndrome hémorragique plus ou moins important, débutant dès l'enfance précoce, parfois dès les premiers jours de vie. Il est, essentiellement, muqueux fait d'épistaxis bilatérales et récidivantes, gingivorragies, ménorragie, hémorragies du post-partum, des saignements prolongés lors des plaies superficielles, un saignement excessif et prolongé après un acte vulnérant et, plus rarement, des hémorragies gastro-intestinales. La sévérité et la fréquence des saignements diffèrent d'un patient à l'autre [8].

Sur le plan biologique, le BSS se caractérise par des plaquettes géantes (12 à 15fl), un chiffre de plaquettes normal ou modérément abaissé et un temps de saignement allongé pouvant dépasser 20 min. L'étude de l'agrégation plaquettaire montre une réponse normale à des agonistes comme l'ADP et le collagène et une absence d'agglutination des plaquettes à la ristocétine qui est un processus dépendant de l'interaction du VWF avec la GP Ib-IX-V [3, 9].

Le BSS se transmet, le plus souvent, selon un mode autosomique récessif, avec souvent une notion de consanguinité. Quelques cas de transmission autosomique dominante ont été décrits [10, 11]. Les défauts génétiques responsables du BSS ont été localisés sur les gènes des GPIba, GPIb β et GPIX situés, respectivement, sur les chromosomes 17 (17p12), 22 (22q11) et 3 (3q21) [3, 5]. Les mutations identifiées s'élèvent à plus de 50 et comprennent des mutations faux sens, non-sens et des petites insertions ou délétions [8]. Les défauts du gène GPV ne sont pas associés au BSS [12].

La sévérité des saignements est imprévisible dans le BSS, les patients doivent être prévenus afin d'éviter les traumatismes et les médicaments antiplaquettaires comme l'aspirine, de maintenir l'hygiène dentaire; toutefois une transfusion en cas de saignement excessif est nécessaire [13]. L'administration de rFVIIa et de Desmopressin sont utilisés pour raccourcir le temps de saignement chez certains patients. Dans de rares cas de patients souffrant de saignements graves et répétitifs, une transplantation de moelle osseuse est utilisée [5].

L'exploration d'une thrombopénie prolongée est une situation classique. La cause la plus fréquente reste le purpura thrombopénique immunologique. Cependant, il est important de savoir remettre en cause ce diagnostic en cas d'atypie, d'association syndromique, d'antécédents familiaux de thrombopénie ou d'hémopathie myéloïde maligne, ou d'évolution inhabituelle, et d'évoquer l'hypothèse d'une thrombopénie constitutionnelle. A travers ce travail, on va essayer d'améliorer les connaissances sur les thrombopathies constitutionnelles notamment le Syndrome de Bernard Soulier, dans le but d'adapter au mieux la prise en charge et la surveillance des patients.

I. RAPPELS PHYSIOLOGIQUES :

A. LES PLAQUETTES SANGUINES :

Les plaquettes sanguines sont des particules anucléées discoïdes provenant de la fragmentation du cytoplasme de grandes cellules de la moelle osseuse, les mégacaryocytes.

La fragmentation du cytoplasme des mégacaryocytes aboutit à la formation des plaquettes : chaque mégacaryocyte produit 2000 à 5000 plaquettes. Les plaquettes sanguines sont distribuées principalement dans le compartiment sanguin : la numération plaquettaire normale est de 150 – 400 Giga/L, constante tout au long de la vie. Par ailleurs environ 30% de la masse plaquettaire de l'organisme est séquestrée de manière réversible dans la rate [14].

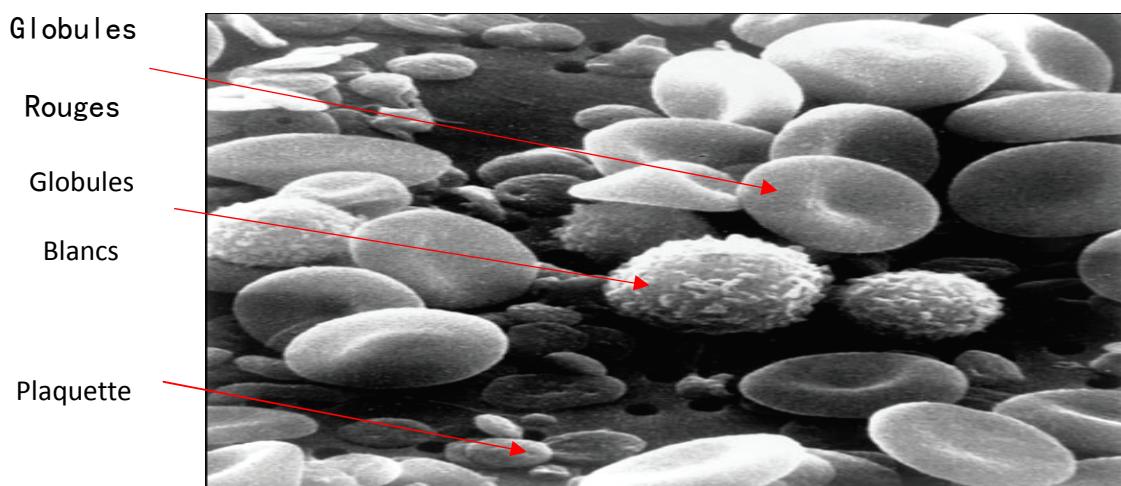


Figure 1: Élément figurés du sang, image de microscopie électronique [15]

Leur durée de vie est de 7 à 10 jours, et à l'état normal les plaquettes vieillies sont éliminées par les macrophages du système réticulo-histiocytaire de la moelle osseuse (également de la rate et du foie).

Leur fonction majeure est leur implication dans l'hémostase dite primaire, où elles seront les premiers éléments à intervenir dans l'arrêt du saignement : elles subiront localement diverses modifications en rapport avec leur activité hémostatique. Elles ont en réalité un rôle majeur dans les mécanismes de l'hémostase, de la coagulation et de la thrombose. Leur structure et leur contenu conditionnent leur efficacité, comme le montrent à la fois leurs déficits quantitatifs et qualitatifs [14].

1. Morphologie des Plaquettes :

Les thrombocytes résultants de la plaquettogénèse présentent un certain nombre de caractéristiques morphologiques appréciées en microscopie.

- **En microscopie optique** : Sur étalement sanguin coloré au MGG ce sont de petits éléments hétérogènes en taille et forme, souvent arrondis ou ovalaires, de 2-3 µm de diamètre: le cytoplasme est clair, légèrement basophile, et contient des granulations azurophiles. A partir d'un échantillon de sang prélevé sur EDTA on observe souvent les granulations regroupées en position centrale (= granulomère) et un liseré clair périphérique agranulaire (= le hyalomère).

- ✓ A l'état normal il existe un certain degré d'anisocytose, mieux reflété par la mesure du volume de chaque plaquette et leur graphe de distribution (proposé par de nombreux automates d'hémogramme). La majorité des plaquettes a un volume compris entre 2 et 20 fl, définissant un Volume Moyen Plaquettaire (VMP) normal de 7 – 12 fl. (figure 2 a)
- ✓ En contraste, de phase elles apparaissent discoïdes, émettent des prolongements et s'étalent après contact avec le verre (prélèvement citraté)
- ✓ La morphologie des plaquettes se modifie lorsqu'elles sont activées : elles deviennent sphériques, émettent des pseudopodes et les granules se centralisent. (figure 2 b)
[16]

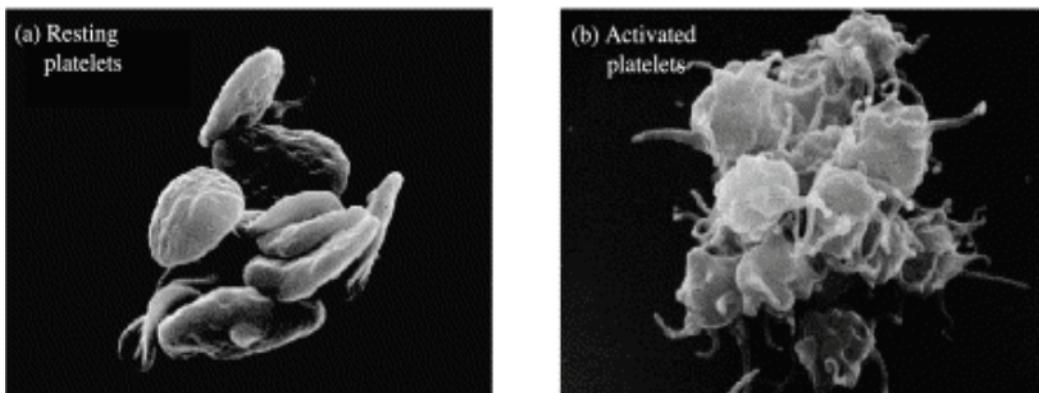


Figure 2 : a) l'aspect discoïde des plaquettes au repos. b) plaquettes activées [15]

- En microscope électronique : elles apparaissent également discoïdes : on peut en outre distinguer les différents composants de la plaquette : divers types de granulations, système membranaire connecté à la surface (système canaliculaire) apparaissant sous forme de vésicules intra cytoplasmiques, tubules, lysosomes, grains de glycogène, mitochondries...[16]

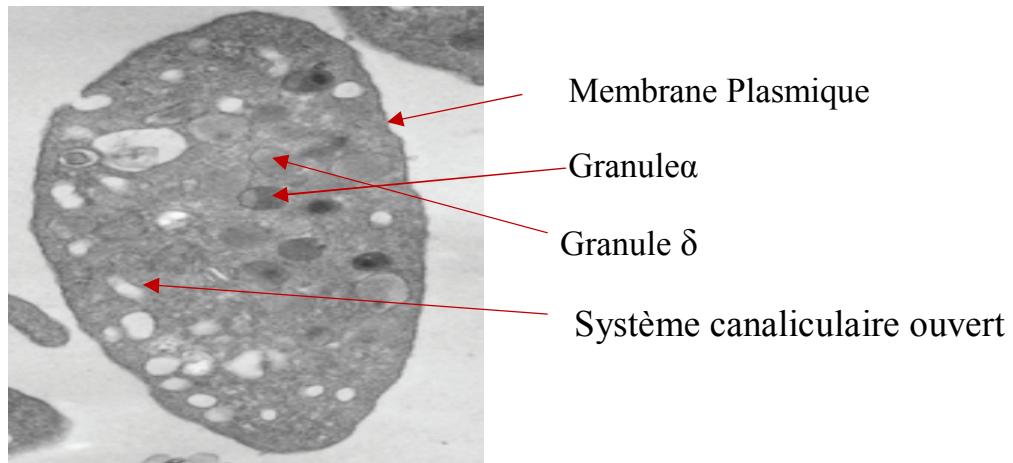


Figure 3 : Ultrastructure de plaquettes sanguines par microscopie électronique

2. Structure et Anatomie Fonctionnelle :

a) Glycocalyx :

C'est un revêtement de surface situé à l'extérieur de la membrane. C'est une couche irrégulière et floue dont l'épaisseur varie de 10 à 50 nm [17]. Le glycocalyx est constitué de glycoaminoglycanes (GAG). C'est le premier site d'interaction des plaquettes avec l'environnement extérieur. Ainsi, face aux GAG endothéliaux, les plaquettes sont repoussées à distance endoluminale de la paroi vasculaire, par opposition aux charges négatives données par les résidus d'acide sialique [18].

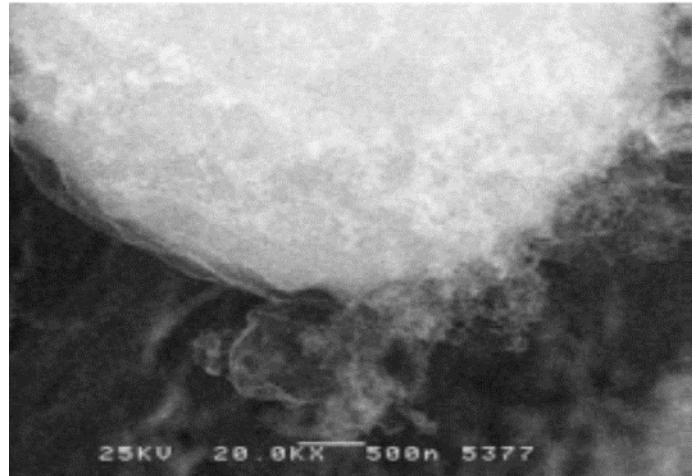


Figure 4 : Glycocalix périplaquettaire [18].

b) La membrane plaquettaire

La membrane plasmique est semblable à celle des autres cellules ; épaisse de 70 à 90 angströms(en microscopie électronique), est constituée d'une bicouche de phospholipides contenant du cholestérol, lipide neutre, qui permet d'assurer une certaine stabilité et rigidité des membranes. Sont, également insérés dans cette bicouche, différents récepteurs dont les glycoprotéines impliquées dans la fonction plaquettaire.

La membrane plasmique présente de nombreuses invaginations ouvertes sur l'extérieur formant ainsi le système canaliculaire ouvert ou SCCS. Ce système permet, lors de l'activation des plaquettes, la libération du contenu de leurs granules de sécrétions.

Ce système constitue enfin une importante source de membrane mobilisable lors du changement de forme des plaquettes. De la même manière au niveau du cytoplasme plaquettaire, nous pouvons distinguer le système tubulaire dense, réseau de membrane semblable au réticulum endoplasmique [15] , qui est le siège de formation du thromboxane A2 (TxA2), le lieu de stockage du calcium ionisé (Ca^{2+}) et le siège de la synthèse des prostaglandines (PG) [18].

Il apparaît que les deux systèmes membranaires (système canaliculaire ouvert et tubulaire dense) soient étroitement liés pour favoriser la libération du contenu des granules de sécrétions [15].

Outre les systèmes de la membrane, les lipides et les protéines représentent respectivement 15% et 60%.

(1) Les lipides :

Ils sont représentés par 78% de phospholipides qui sont distribués de façon asymétrique dans la double couche membranaire. Sur la plaquette au repos, la sphingomyéline est présente dans le feuillet externe et la phosphatidylsérine, le phosphatidylinositol et la phosphatidyléthanolamine dans le feuillet interne [16]. Ces deux derniers phospholipides sont respectivement hydrolysés par les phospholipases C (PL C) et A2 (PL A2) qui interviennent dans le métabolisme des PG. Pour finir, la phosphatidylcholine est répartie entre les deux feuillets membranaires [18]. Le maintien de cette asymétrie est assuré par une protéine particulière : l'aminophospholipide translocase ou scramblase. Ainsi, par le biais de ses phospholipides, la membrane plaquettaire est la source majeure d'acide arachidonique et la celle de platelet factor 3 (PF3) dont l'activité semble être supportée essentiellement par la phosphatidylsérine.

En dehors des phospholipides, il existe des céramides, des glycolipides neutres et acides ou des gangliosides [16].

(2) Les protéines :

Elles sont constituées en particulier des glycoprotéines (GP). Ces GP étaient initialement classées en trois groupes majeurs appelés GPI, II et III avec des poids moléculaires respectifs de 150, 130, 100 kDa. La description des GP de poids moléculaires inférieurs (GPIV, V, VI) est venue compléter la classification initiale [16].

Les glycoprotéines (GP) ont les fonctions les plus importantes. Plus de quarante molécules protéiques ont été identifiées à la surface de la plaquette ; certaines sont exprimées sur la membrane native ou après activation [19, 20]. Le tableau suivant résume les principales protéines plaquettaires avec leurs ligands :

Tableau 1 : Principales protéines de la membrane plaquettaire [14]

LIGAND PRINCIPAL	PROTEINE	AUTRES DENOMINATIONS
collagène	intégrine $\alpha 2\beta 1$	CD49b
collagène	GP VI	GMP 140, PADGEM
collagène (thrombospondine)	GP IV	CD36
fibronectine	intégrine $\alpha 5\beta 1$	CD49e
laminine	intégrine $\alpha 6\beta 1$	CD49f
fibrinogène (vWF)	Intégrine $\alpha IIb\beta 3$	GP IIb-IIIa (CD41 + CD61=CD41b)
facteur von Willebrand (thrombine)	GP Ib-IX-V	CD42a, b, c
thrombine	PAR	récepteurs couplés à la prot. G
ADP	P2	récepteurs couplés à la prot. G

A côté de ces GP d'intérêt majeur, d'autres molécules, moins étudiées, sont présentées sur la membrane plasmique des plaquettes [**PECAM-1 (CD31)**, récepteur de la vitronectine (**CD51/CD61**)], ou sur les membranes granulaires [**CD63, LAMP1 et 2 (CD107a et b)**]. Ces dernières, comme dans le cas de la GMP140, sont détectables en surface après stimulation cellulaire. Cette liste, non exhaustive, concerne des antigènes dont le rôle est, pour la plupart, à déterminer.

c) Cytoplasme :

Faisant suite à la membrane et à ses constituants, il y a le cytoplasme qui en plus d'être constitué d'un cytosquelette comprend différents types d'organelles.

(1) Cytosquelette :

La membrane plasmique est supportée par un cytosquelette très développé, constitué par différents systèmes fibrillaires : les microtubules et les microfilaments d'actine. Ce

cytosquelette joue un rôle important dans le changement de forme des plaquettes qui intervient lors de leur activation et de leur agrégation. Nous décrirons succinctement le réseau de microtubules et d'actine.

Le réseau sous membranaire de microtubules est responsable de la forme discoïde des plaquettes au repos. Ce réseau est l'assemblage de 8 à 12 tours de filaments de microtubules.

Dans les plaquettes les microtubules sont constitués de sous-unité de dimères de tubuline α et $\beta 1$ qui s'organisent en protofilaments puis en filaments. Des protéines sont associées aux microtubules notamment la dynéine et la kinésine [21].

L'actine résulte de la polymérisation d'actine monomérique (actine G) en protofilaments qui vont s'associer deux à deux pour former le filament d'actine ou d'actine F.

Environ 60% de l'actine est sous forme d'actine G dans les plaquettes au repos. Alors que le réseau de microtubules dans les plaquettes est principalement sous membranaire, le réseau d'actine s'organise différemment : on distingue un réseau intracellulaire et un réseau adjacent aux microtubules c'est-à-dire sous membranaire. Le réseau intracellulaire d'actine traverse de part en part la totalité du cytoplasme des plaquettes. Un maillage de courts filaments d'actine est présent sous les membranes plasmiques et du système canaliculaire ouvert. Différentes protéines sont associées aux filaments d'actines : on trouve l' α -actinin et la tropomyosine pour le réseau d'actine intracellulaire. La spectrine et la filamine sont essentiellement associées à l'actine sous membranaire. Une partie de ces protéines permet la liaison du réseau d'actine avec des protéines membranaires comme les glycoprotéines $\alpha IIb\beta 3$ et Ib [22, 23].

(2) Organelles :

Le cytoplasme des plaquettes est composé d'un grand nombre d'organites comme des mitochondries, des grains de glycogène et différents types de granules.

Parmi les différents types de granules :

- **Les granules α** sont les plus abondants. Ils renferment des protéines chimiokines comme le facteur plaquettaire 4 (PF4), des facteurs de coagulation (V, XI, XIII), la β -thromboglobuline, des IgG plasmatiques, des protéines d'adhésion (facteur von Willebrand

(vWF), fibrinogène) et des facteurs de croissance (PDGF, TGF- β). Les membranes des granules α renferment de nombreuses molécules comme l'intégrine α IIb β 3, la P-sélectine et PECAM-1.

▪ **Les granules δ ou denses** (denses aux électrons en microscopie électronique), de 0,15 à 0,4 μm , sont moins nombreux que les granules α ; ils contiennent des nucléotides comme l'ADP et l'ATP synthétisé *in situ*, du Ca $^{2+}$ et de la sérotonine (5'HT) captée elle du plasma.

▪ **Les lysosomes** renferment un certain nombre d'enzymes comme des hydrolases acides, des phosphatases acides, de la collagénase...

Les autres types d'organites composant le cytoplasme plaquettaire sont les mitochondries, siège de la chaîne respiratoire.

▪ **Les peroxysomes** qui contiennent la catalase responsable de la réduction du peroxyde d'hydrogène.

Les plaquettes ne contiennent pas de noyaux néanmoins elles renferment des ARNm issus des mégacaryocytes. Elles possèdent l'équipement nécessaire (polyribosomes, réticulum endoplasmique rugueux) pour la traduction de ces ARNm. Cependant cette activité traductionnelle est principalement limitée aux plaquettes nouvellement formées ou activées par des agonistes [24].

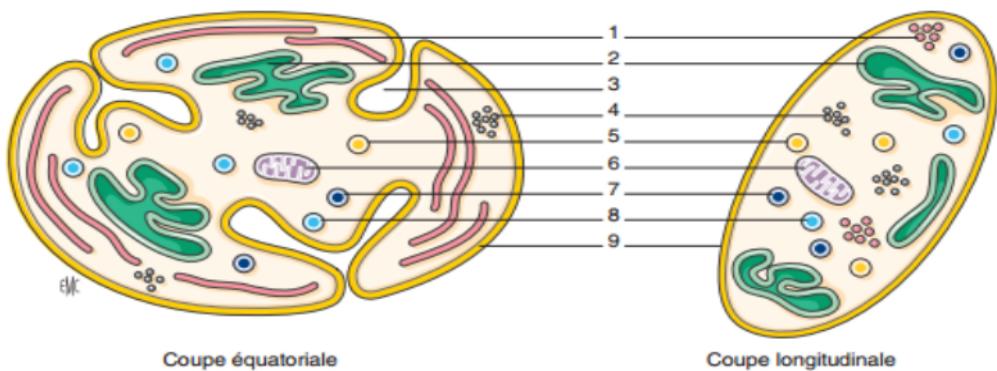


Figure 5 : Représentation schématique d'une plaquette sanguine [18].

1. Microtubule/2.Système tubulaire dense/3.Système canaliculaire ouvert/ 4. Glycogène/ 5.Lysosome/
- 6.Mitochondrie/ 7.Granule dense/ 8.Granule α / 9.Membrane plasmique.

3. Fonctions Plaquettaires :

Les plaquettes jouent un rôle dans plusieurs processus physiologiques et pathologiques dont le principal est l'hémostase.

a) Hémostase :

C'est un phénomène physiologique qui contribue à la prévention et à l'arrêt des saignements. Il assure le maintien de la fluidité du sang et l'intégrité des vaisseaux. L'hémostase est subdivisée en trois étapes presque simultanées qui sont l'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse. Nous nous intéresserons surtout aux deux premières étapes qui sont conditionnées par l'action des plaquettes sanguines.

(1) Hémostase primaire :

Les thrombocytes jouent un rôle primordial dans l'hémostase primaire. Cette dernière est mise en route après la survenue d'une brèche vasculaire ; elle aboutit à la formation du clou plaquettaire ou thrombus plaquettaire. Elle est constituée de plusieurs étapes étroitement intriquées.

D'abord, nous avons l'adhésion plaquettaire qui est rattachée à la notion de reconnaissance de la surface lésée par rapport à une surface normale. Elle s'effectue via des interactions spécifiques entre les récepteurs plaquettaires et leurs ligands présents au niveau de certains constituants du sous-endothélium comme les collagènes ou les microfibrilles. Ainsi, la GPIba plaquettaire par l'intermédiaire de la fixation du FVW permet l'adhésion des plaquettes aux microfibrilles et aux collagènes (I et III) [16]. Cette interaction correspond à la phase de ralentissement des plaquettes et peut déjà entraîner un certain degré d'activation. La phase d'arrêt qui lui succède met en jeu la GPIa-IIa par liaison de cette intégrine à ses récepteurs spécifiques présents sur les collagènes I et III. La liaison de la GPVI à ses récepteurs spécifiques au collagène V induit la phase d'activation. D'autres GP appartenant à la famille des intégrines participent au phénomène d'adhésion. C'est le cas du complexe GPIc-IIa qui est le récepteur de la laminine et de la p65 qui réagit avec le collagène de type I.

Les paramètres hémodynamiques et rhéologiques jouent aussi un rôle dans ce phénomène d'adhésion. Ils comportent surtout les forces de cisaillement. Ces forces sont conditionnées par la nature du flux, par le débit, par la géométrie du vaisseau et par la concentration en globules rouges. Ces paramètres déterminent vraisemblablement la fréquence et l'impulsion avec lesquelles les plaquettes sont projetées contre la surface sous-endothéliale. D'autres paramètres comme le FVW plasmatique semblent également nécessaires à l'adhésion.

La coopération optimale entre les divers récepteurs et ces différents paramètres permet l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium, conditionnant ainsi leur activation [9].



Figure 6: Schéma de l'adhésion plaquettaire au sous-endothélium [18]

L'étape d'activation fait suite à celle d'adhésion. Au cours de ce processus, surviennent d'importantes modifications morphologiques et des réactions biochimiques. Ainsi, la plaquette initialement discoïde change de forme et devient sphérique. Ses granules de stockage se concentrent alors en son centre. De plus, elle émet des pseudopodes et développe des invaginations [16]. Figure 7,8.

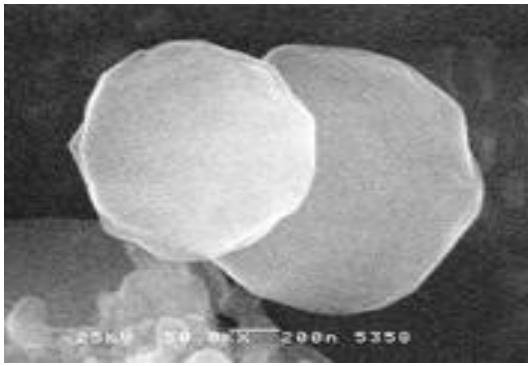


Figure 7 : image de la ballonisation sphère lors du changement de la forme

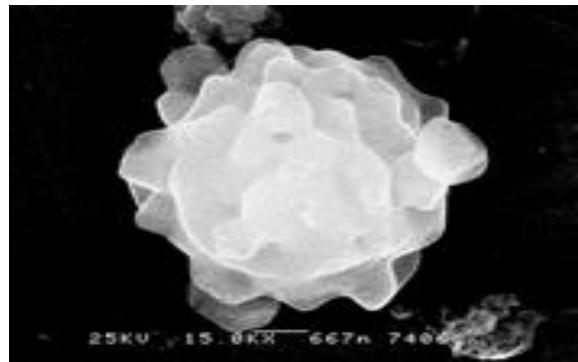


Figure 8 : image de l'émission de pseudopodes lors du changement de la forme

Les principaux stimuli physiologiques mis en cause sont l'ADP, la thrombine, le collagène ou les microfibrilles. La stimulation des plaquettes par l'un de ces stimuli entraîne des modifications métaboliques mettant en jeu l'activation des PLA2 et PLC qui sont des enzymes capables de générer des seconds messagers directement impliqués dans l'initiation et la propagation de l'activation plaquettaire. La PLC γ est phosphorylée par une protéine tyrosine kinase. La PLC β hydrolyse le phosphatidylinositol 4,5 biphosphate membranaire en inositol 1, 4,5 triphosphate et en diacylglycérol. Celui-ci peut être transformé en acide arachidonique par une diglycéride lipase et rejoindre ainsi le métabolisme des PG. L'inositol triphosphate intervient en libérant le calcium du système tubulaire dense, augmentant ainsi sa concentration intracytoplasmique.

L'augmentation de la concentration cytosolique en Ca²⁺ et la phosphorylation via la p38 mitogen activated protein kinase (MAPK) activent la PLA2, qui hydrolyse alors les phospholipides membranaires, libérant également l'acide arachidonique pour la synthèse de nombreux prostanoïdes dont le principal est le TxA2. Ce dernier va venir amplifier le phénomène d'activation plaquettaire [25]. Il en est de même de la PGE 2 et de la PGF 2 α à certaines concentrations. Par contre, la PGE 1 entraîne l'activation de l'adénylcyclase qui augmente le taux d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) et vient dès lors inhiber l'activation plaquettaire. De plus, cette mobilisation du calcium intracellulaire active la kinase de la chaîne légère de myosine, une protéine kinase dépendante du complexe calcium/calmoduline. Cette chaîne phosphoryle une protéine impliquée dans le changement

de forme et dans la centralisation et la sécrétion des granules [16]. Le diacylglycérol et le calcium ainsi libérés stimulent également la phosphokinase C (PKC), responsable de la phosphorylation de plusieurs protéines dont la pleckstrine (P47) [18].

Ce processus d'activation est mis en œuvre afin que soient libérés les constituants granulaires lors de la réaction de libération ou sécrétion. Cette étape est la conséquence de la fusion des membranes granulaires avec le SCCS et la membrane plasmique. Elle met en jeu de façon extrêmement rapide et successive les granules denses, les granules α puis les lysosomes dont le contenu est libéré dans le but de créer un environnement favorable à l'agrégation plaquettaire et à la réalisation de la coagulation entre autre [9].

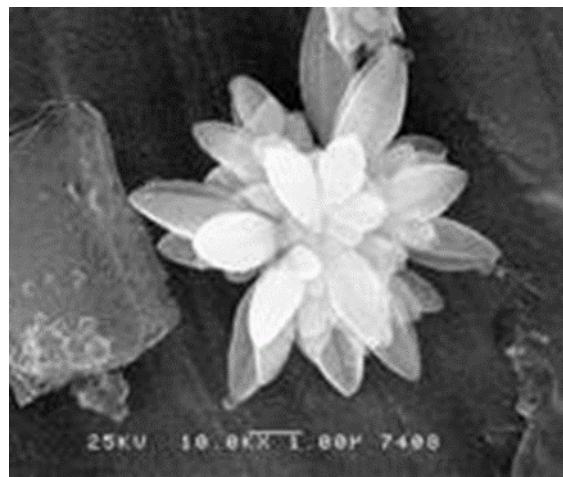


Figure 9 : Image illustrant la sécrétion plaquettaire [18]

Ainsi, l'agrégation est la faculté des plaquettes à adhérer les unes aux autres sous l'effet d'un stimulus pour former des agrégats cellulaires plus ou moins importants et plus ou moins solides. Cette étape d'agrégation est favorisée par l'augmentation de calcium intracellulaire entraînant des changements de conformation structuraux au sein du complexe GPIIb-GPIIIa qui permet la fixation du fibrinogène plasmatique.

Ce processus est consolidé par l'exposition à la surface plaquettaire de la thrombospondine [16].

De nombreuses substances peuvent induire *in vitro* et probablement *in vivo* l'agrégation plaquettaire : ADP, collagène,adrénaline, sérotonine, acide arachidonique, thromboxane,

endopéroxydes, platelet activating factor –acéther (PAF-acéther). Certaines de ces substances comme l'ADP, la thrombine, la sérotonine et l'adrénaline induisent une agrégation dite primaire car celle-ci est faite directement par un mécanisme indépendant de leur capacité à provoquer la libération de l'ADP contenu dans ces plaquettes. Les autres agents sont des agrégants secondaires qui induisent l'agrégation plaquettaire en provoquant la libération d'ADP et/ou la synthèse des PG ou des métabolites apparentés aux plaquettes [17]. Actuellement trois principales voies d'agrégation sont reconnues. Il s'agit de la voie de l'ADP, celle des PG et celle du PAF-acéther.

Si l'on revient à l'agrégat plaquettaire, il est initialement très fragile, perméable ; il se consolidera grâce à l'activité contractile plaquettaire faisant intervenir l'actomyosine et grâce à la formation du réseau de fibrine [16].

Le phénomène d'agrégation plaquettaire ouvre, de ce fait, une porte sur celui de la coagulation.

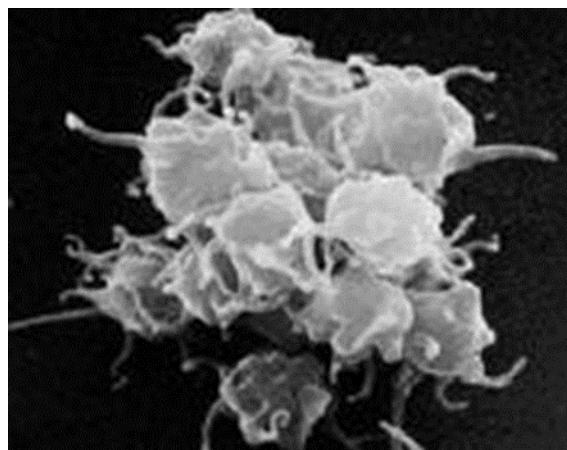


Figure 10 : Image illustrant la formation de l'agrégat plaquettaire [18]

(2) Coagulation

Lors de l'activation plaquettaire, après l'exposition des plaquettes au collagène, un changement de distribution des phospholipides membranaires se produit avec exposition de la phosphatidylsérine de la face interne à la face externe de la membrane plasmique par un phénomène de flip-flop sous l'effet de la scramblase. La membrane représente alors une micelle phospholipidique propice à la fixation et à l'activation de certains facteurs de la

coagulation [26]. Cette acquisition d'activité procoagulante repose principalement sur la disponibilité du PF3 intimement lié à la disponibilité des phospholipides membranaires non accessibles sur la plaquette au repos [16]. Cette exposition phospholipidique aboutit par ailleurs à la vésiculation des membranes et à la génération de microparticules qui favorisent la dissémination de l'activité procoagulante mais aussi le potentiel d'adhésion [9].

(3) Fibrinolyse

Ce processus est essentiellement du ressort des cellules endothéliales [27].

b) Autres fonctions :

(1) Inflammation :

Les plaquettes peuvent amplifier une réaction inflammatoire par la sécrétion du facteur de perméabilité vasculaire, l'aptitude à promouvoir le chimiotactisme des polynucléaires et la synthèse des PG [16].

(2) Immunité

Les thrombocytes peuvent être activés par de nombreux complexes antigène- anticorps. Le rôle du complément a été évoqué dans le mécanisme de cette activation. Ainsi, les plaquettes sont capables de fixer des Ig E spécifiques antiparasitaires grâce au complexe GPIIb-IIIa [16].

(3) Phagocytose

Les plaquettes, par un processus similaire à celui de la phagocytose peuvent englober des particules étrangères variées. Il est souvent difficile de faire la distinction entre une phagocytose réelle et la fixation passive de particules à la membrane qui borde le système canaliculaire [17].

(4) Dissémination métastasique

Les cellules métastasiques contractent des rapports avec les plaquettes lors de leur dissémination par voie sanguine. Il a été rapporté que les thrombocytes pouvaient adhérer en amas autour de ces cellules métastasiques. Ce phénomène serait nécessaire pour la perméation trans-endothéliale des cellules néoplasiques [16].

B.LE COMPLEXE GP IB/IX/V (CD 42) :

Le complexe glycoprotéiques (GP) Ib-IX-V est un récepteur plaquettaire pivotant dans l'initiation et la propagation de l'hémostase et de la thrombose artérielle.

L'histoire du complexe GPIb-IX-V commençait avec la découverte en 1948 du trouble de saignement congénital, le syndrome de Bernard Soulier ; plus tard attribué à une déficience de l'expression fonctionnelle GPIb-IX-V. La purification de GP Ib-IX-V à partir de plaquettes humaines est réalisée en 1985 et le clonage des sous-unités GP Iba, GP Ib β , GP IX et GP V entre 1987 et 1993 [28, 29].

Le premier rôle connu pour GP Ib-IX-V était un récepteur d'adhérence pour le facteur von Willebrand (VWF). Au cours des années suivantes, les connaissances autour de cette glycoprotéine vont augmenter ainsi le nombre de ligands, de contre-récepteurs et de fonctions pour GPIb-IX-V vont s'élargir.

1. Structure :

a) Le complexe GP Ib-IX-V :

Une façon de commencer à expliquer l'importance de GP Ib-IX-V est de comprendre sa structure. Les caractéristiques structurelles et fonctionnelles clées du complexe GP Ib-IX-V sont représentées schématiquement sur la figure 11.

Le complexe comprend 4 sous-unités de polypeptides transmembranaires distinctes, GP Iba, GP Ib β , GP IX et GP V, avec un ratio respectivement de 2: 2: 2: 1 [30, 31]. Chacune des 4 sous-unités est un membre de la superfamille dite motif répétitif riche en leucine en anglais leucine-rich repeat (LRR), dont les membres sont impliqués dans des processus aussi variés que la signalisation cellulaire, l'adhésion cellulaire et le développement [32, 33]. Le nombre de LRR est variable (GPIba : 8 ; GPV : 15 ; GPIb β et GPIX : 1).

Dans les polypeptides du complexe GP Ib-IX-V, les séquences répétitives riches en leucine ont une longueur d'approximativement de 24 acides aminés, se présentent isolées ou répétées en tandem, limitées par des structures en boucle disulfure N- et C-terminales [33].

GP Iba (CD42b) est une protéine de 135 kD liée par un pont disulfure à la chaîne GP Ib β (CD42c) de 25 kD. La GpIX (CD42a) de 22 kD est étroitement attachée mais non covallement à GP Iba- β dans un rapport molaire de 1:1, et Co-précipite par des anticorps dirigés contre GP Iba. Quant à la GP V (CD42d), le poids moléculaire est de 83 kD, elle est plus lâchement associée à GP Ib et GP IX dans un rapport molaire de 0,5:1. [34]

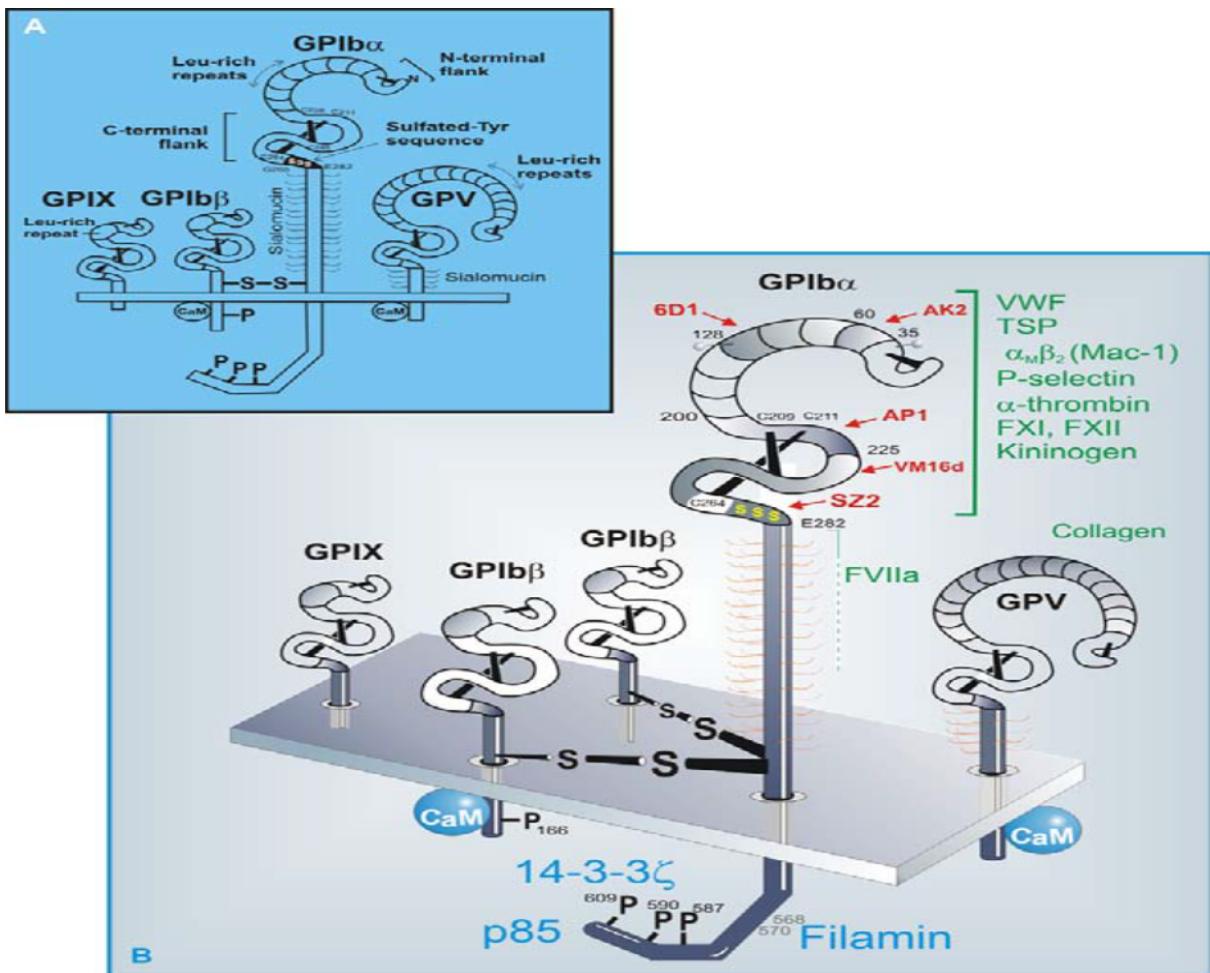


Figure 11 : Structure du complexe GP Ib-IX-V :

A- Domaines structurels de GPIb-IX-V, montrant les répétitions extracellulaires riches en leucine et les séquences flanquantes N-terminales et C-terminales disulfidéloées des sous-unités GPIba, GPIb β , GPIX et GPV ; L'emplacement de la séquence Tyr anionique / sulfatée est indiqué. L'emplacement des sites de phosphorylation dans les queues cytoplasmiques GPIb β (Ser166) et GPIba (Ser587, Ser590 et Ser 609) est également indiqué. Les séquences cytoplasmiques de juxtamembrane de GPIb β et GPV contiennent des sites de liaison à la calmoduline.

B- Les sites fonctionnelles de liaison de GPIba comprennent les résidus N-terminaux 282 de GPIba, qui contiennent des sites de liaison non contigus pour les ligands listés, ainsi que des épitopes pour un certain nombre d'anticorps anti-GPIba monoclonaux (flèches) qui inhibent la liaison de VWF (AK2, 6D1, AP1), P-selectine (AK2, SZ2), α M β 2 (AP1, VM16d), thrombospondin (AP1, SZ2) et / ou α -thrombine (VM16d, SZ2). Le collagène se lie au domaine extracellulaire de GPV. Le filamine se lie à la région centrale du domaine cytoplasmique de GPIba, alors que plus de sites de phosphorylation C-terminal sur GPIba (Ser587 / Ser590 et Ser609) et GPIb β (Ser166), régulent l'interaction de 14-3-3 ζ avec GPIb-IX-V dans Plaquettes reposantes. Les cercles représentent des sites de glycosylation N-liés (NXS / T) chez Asn21 et Asn159. L'association de la calmoduline avec GPIb β et GPV peut réguler l'expression en surface de GPIb-IX-V et éventuellement d'autres aspects de l'activation des plaquettes GPIb-IX-V. Abréviations: CaM, calmoduline; FXI, facteur XI; FXII, facteur XII; TSP, thrombospondin-1; VWF, facteur von Willebrand. [35]

Cependant, malgré ces similitudes structurelles, les polypeptides comprenant le complexe GP Ib-IX-V proviennent tous de gènes distincts résidant dans différentes régions du génome [36, 37].

Pour mieux comprendre l'organisation de la GP Ib-IX-V, il semble nécessaire de discuter la structure des principaux domaines de chaque sous-unité. Les sous-unités du complexe sont des protéines transmembranaire de type I, consistant en un grand domaine extracellulaire N-terminal, une hélice transmembranaire (TM) et une queue cytoplasmique relativement courte dépourvue d'activité enzymatique

GP Ib α (135 kD, 610 acides aminés) se compose d'un domaine globulaire N-terminal de 45 kD [38], contenant 7 répétitions tandem riches en leucine et leurs séquences flanquantes, une séquence de 19 acides aminés riche en résidus d'aspartate et de glutamate chargés négativement et 3 tyrosines sulfatées [39, 40], ainsi qu'un noyau de mucine, macroglycopeptide, hautement glycosylé, une seule séquence transmembranaire et une queue cytoplasmique de 96 résidus d'acides aminés [29].

La structure des répétitions riches en leucine représentée sur la figure 1 est basée sur la structure cristalline des rayons X de l'inhibiteur de la ribonucléase porcine, une protéine entièrement constituée de répétitions riches en leucine [41]. Dans cette structure, chaque répétition forme une unité structurelle β - α (Un court brin β -parallèle à une α -hélice), ce qui entraîne une molécule en forme de fer à cheval dans laquelle les hélices forment la circonférence extérieure et les brins β forment la surface intérieure. Si les répétitions riches en leucine de la GP Ib-IX-V adoptent une structure similaire, cela produit une surface en forme d'éventail avec la plupart des chaînes latérales d'acides aminés exposées au solvant, une propriété qui peut maximiser les interactions de surface avec des protéines cibles et qui a également l'effet de rapprocher les séquences flanquantes. Le macroglycopeptide contient un hexasaccharide O-linked et sialylé en moyenne tous les 3 à 4 acides aminés [42, 43], ce qui crée un échafaudage qui étend le domaine globulaire N-terminal et le site de liaison du vWF environ 45 nm de la surface de plaquette [38]. Cette région est très polymorphe. Chez chaque individu, sa longueur dépend de quelle combinaison de 4 allèles possibles est héritée. Les produits de ces allèles diffèrent en ayant 1, 2, 3 ou 4 copies répétées en tandem d'une séquence de 13 acides aminés [44, 45], dont chacune a été prévue d'ajouter environ 32 Å à la longueur du macroglycopeptide [45].

GP Ib β (25 kD, 181 acides aminés) possède une seule répétition riche en leucine [46]. La séquence cytoplasmique, 34 acides aminés, inclue une cystéine palmytoylée facilitant l'ancrage à la membrane plasmique et contient un site de la phosphorylation de la protéine kinase A (PKA), exactement à Ser166 [47], qui est responsable de la régulation du réarrangement du cytosquelette plaquettaire en réponse à une stimulation agoniste [48].

GP IX (22 kD, 160 acides aminés), comme GP Ib β , a un seul motif de répétition riche en leucine [49], et reste associé à la GP Ib en tant que complexe 1:1 lorsqu'il est purifié dans Triton X-100 (un détergent de synthèse) [50]. Il a une courte queue cytoplasmique de 5 acides aminés. Pareil à la GP Ib β , la séquence cytoplasmique de GP IX possède un résidu cystéinylique proximal à la membrane qui peut être palmitoylé *in vitro*, une modification qui peut fournir un ancrage supplémentaire pour le complexe dans la membrane plaquettaire [51]. L'analyse des protéines de mégacaryocytes de cobaye suggère que GP IX est principalement myristoylé plutôt que palmitoylé [52].

GP V (82 kD, 544 acides aminés) a 15 répétitions riches en leucine et une courte queue cytoplasmique de 16 acides aminés [53, 54]. L'autre Caractéristique de GP V, c'est qu'il est parmi les substrats limités de la thrombine présents sur la membrane plaquettaire, avec un fragment majeur, GP Vf1 (69,5 kD), libéré de la surface des plaquettes traitées à la thrombine [55]. La signification fonctionnelle de ce clivage de la physiologie des plaquettes reste incertaine.

b) Partenaires intracellulaires :

Les domaines intracellulaires des 4 sous-unités du complexe GPIb-V-IX, ne portent pas de motifs connus de signalisation ni d'activité enzymatique. Il est donc vraisemblable que des partenaires intracellulaires interviennent dans la transmission du signal. A ce jour, 8 partenaires directs (filamine A, 14-3-3 et calmoduline) ou indirects (PI3 kinase, SHIP-2, pp60 c-src, Lyn et α -actinine) ont été identifiés (Figure 12). Ils ont été identifiés par co-immunoprecipitation avec GPIb-V-IX à partir de lysats de plaquettes ou de cellules transfectées par le complexe normal ou muté.

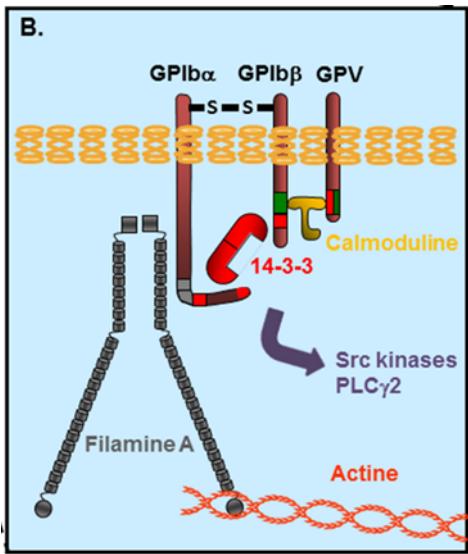


Figure 12 : Partenaires intracellulaires directs et indirects du complexe GP Ib-V-IX [56]

La filamine A (280 kDa) [57] est un homodimère qui interagit avec la région 567-571 de la GPIb α via sa partie C terminale et avec l'actine par son extrémité N-terminale grâce au domaine ABD (Actin Binding Domain), créant ainsi un pont avec le cytosquelette sous-membranaire. Cette interaction pourrait être impliquée dans le maintien de la forme discoïde des plaquettes. En effet, l'absence du complexe, et donc la perte du lien filamine-actine, se traduit par la formation de plaquettes beaucoup plus grandes et déformables. Ceci a été décrit dans les plaquettes de souris déficientes pour la GPIb α ou la GPIb β , ainsi que chez les patients porteurs du syndrome de Bernard-Soulier [3]. La filamine A se lie également à certaines intégrines consolidant l'ancre au cytosquelette sous-membranaire [58]. Elle servirait également de point de rencontre pour des protéines de signalisation en interagissant avec celles-ci (GTPases).

La famille de protéines adaptatrices 14-3-3, d'un PM compris entre 29 et 32 kDa, est exprimée dans toutes les cellules eucaryotes. Les plaquettes expriment les formes β , γ , ϵ , ζ et η et θ [59, 60]. Les 14-3-3 interagissent avec des protéines de signalisation et nucléaires comme c-Raf, PKC, p130^{Cas}, BAD, cdc25 et PI3 kinase qui sont impliquées dans de nombreuses fonctions [61]. Des expériences de co-immunoprecipitation ont permis de mettre en évidence l'interaction du complexe GPIb-V-IX avec toutes ces isoformes dans la plaquette [59]. L'interaction de la 14-3-3 ζ avec les régions 580-590 et 606-610 de la GPIb α , a été montrée

dans des cellules CHO transfectées avec des formes normales ou mutées du complexe GPIb-IX [59]. 14-3-3 interagit également avec la partie intracellulaire de la GPIb β , mais la délétion de ce domaine n'empêche pas la liaison au complexe via GPIba. La 14-3-3 ζ est impliquée dans l'activation de l'intégrine α IIb β 3 puisqu'une perte d'association avec la GPIba inhibe cette activation et l'étalement des cellules sur FW [62, 63].

La calmoduline est une calciprotéine de 18 kDa très conservée chez les eucaryotes. Une association entre la calmoduline et les sous-unités GPIb β et GPV a été rapportée mais son rôle fonctionnel reste à établir [64]. Cette protéine est connue pour participer au changement de forme des plaquettes lors de leur activation par sa capacité à activer la MLCK et la myosine.

La PI3 kinase a été décrite pour interagir indirectement avec le complexe GPIb-V-IX. La sous-unité p85 de la PI3 kinase se lierait au complexe par l'intermédiaire de la 14-3-3 ζ . La perte de liaison après activation des plaquettes pourrait participer à l'activation de l'intégrine α IIb β 3 et à sa signalisation «outside-in»[65-67].

La GPIb pourrait également interagir avec deux src kinases, pp60^{c-src} et Lyn [68]. Le mécanisme proposé implique le recrutement de pp60^{c-src} par la PI3Kinase permettant son activation. Le mode d'interaction de Lyn n'est pour l'instant pas défini.

La SH2 domain-containing inositol 5-phosphate (SHIP-2) hydrolyse en position 5 le groupement phosphate du PI3,4,5P3 pour former du PI3,4P2. Cette enzyme a été décrite pour interagir indirectement avec le complexe GPIb-V-IX via la filamine et pour contrôler négativement le réarrangement du cytosquelette d'actine et la formation de lamellipodes [69].

L' α -actinine interagit avec le complexe GPIb-V-IX dans des plaquettes soumises à des forces de cisaillement élevées dans un appareil de type viscosimètre. L' α -actinine présente dans le cytosquelette sous-membranaire, se lie à l'actine et intervient dans l'association des filaments d'actine entre eux. Le rôle de l' α -actinine serait de servir de protéine adaptatrice pour recruter des protéines de signalisation [70].

2. La Synthèse : Du Gène Aux Protéines :

Tous les gènes codant pour le complexe GPIb / IX / V ont été clonés, caractérisés et leurs sites chromosomiques ont été attribués. Le gène codant pour la GP Iba est situé sur le bras court du chromosome 17, celui de la GP Ib β est sur le bras long du chromosome 22 et les gènes codant pour la GP IX et GP V sont situés sur le bras long du chromosome 3 (3q21 et 3q29 respectivement)[36, 37, 71]. Comme les polypeptides de ce complexe, les gènes partagent un certain nombre de caractéristiques et de similitudes structurelles. Tous sauf le gène de GP Ib β contiennent l'ensemble de la séquence codante dans l'un des exons [54, 72, 73]; le gène GPIb β contient un intron situe juste après le début de la séquence de codage [74]. Tous sont également relativement dépourvus d'introns, avec seulement le gène GP IX contenant plus de 1 intron (il contient 2) [72] (figure 13).

Ces gènes partagent cette structure compacte et le manque d'introns avec d'autres gènes de la famille répétitive riche en leucine, le meilleur exemple étant le gène de la glycoprotéine oligodendrocytaire-myéline, qui contient un petit intron dans sa région 5' non traduite et l'ensemble de la région codante dans un exon [75].

Les structures des régions promotrices des 4 gènes partagent également des éléments régulateurs de consensus communs, tels que GATA-1 et les sites de liaison des facteurs de transcription Ets ainsi que des mécanismes similaires pour leur régulation sont suggérés [76, 77].

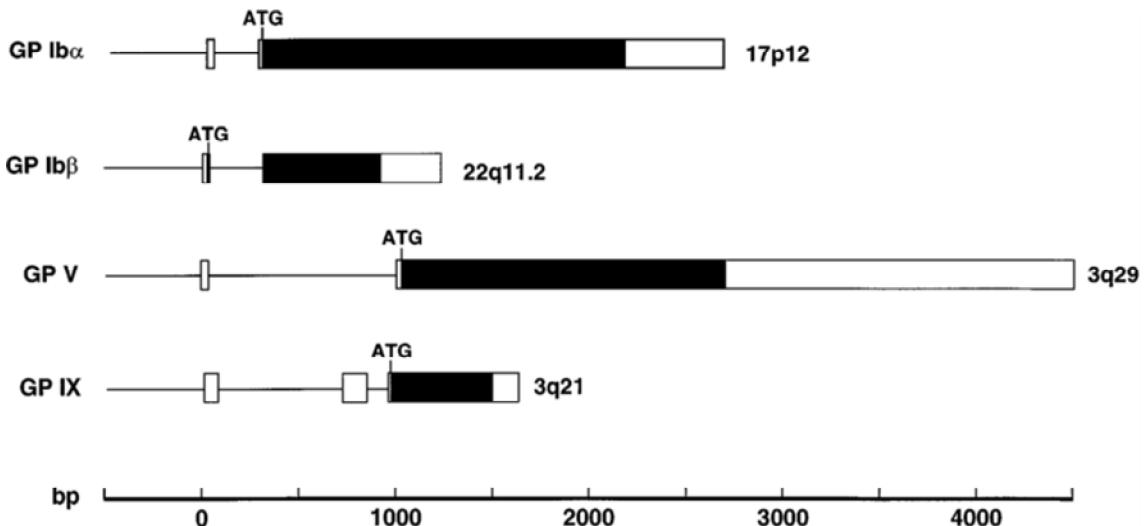


Figure 13 : Structures des gènes codant pour les 4 polypeptides du complexe GP Ib-IX-V avec des exons représentés sous forme de boîtes, introns comme lignes entre boîtes et cadres de lecture ouverts en noir. La position du codon de démarrage ATG est également indiquée.[3]

L'expression du complexe GP Ib-IX-V est limitée à un très petit nombre de tissus, la seule expression composante majeure étant celle des mégacaryocytes et des plaquettes ; toutefois ce complexe peut aussi être exprimé dans les cellules endothéliales. Bien qu'il s'agisse d'une controverse, il a été décrit une expression, à faible niveau, de la GP Ib α dans les cellules endothéliales qui peut être améliorée par la cytokine inflammatoire dite aussi le facteur α de nécrose tumoral (TNF α). Des travaux de clonage d'un ADNc de GP Ib α à partir d'une bibliothèque de cellules endothéliales ont montré l'expression de GP Ib α dans l'endothélium. Cet ADNc était pratiquement identique à l'ADNc de GP Ib α original cloné à partir d'une bibliothèque de cellules HEL. Plus récemment, Wu et al ont fourni des preuves que les cellules endothéliales, en culture et *in vivo*, expriment le complexe GP Ib-IX-V complet. La seule différence avec le complexe plaquettaire est la nature de GP Ib β . Kelly et al ont trouvé un polypeptide dans les cellules endothéliales qui a réagi avec les antisérum de GP Ib β , mais qui a migré à une masse moléculaire plus élevée (50 kD) que le polypeptide plaquettaire (25 kD).

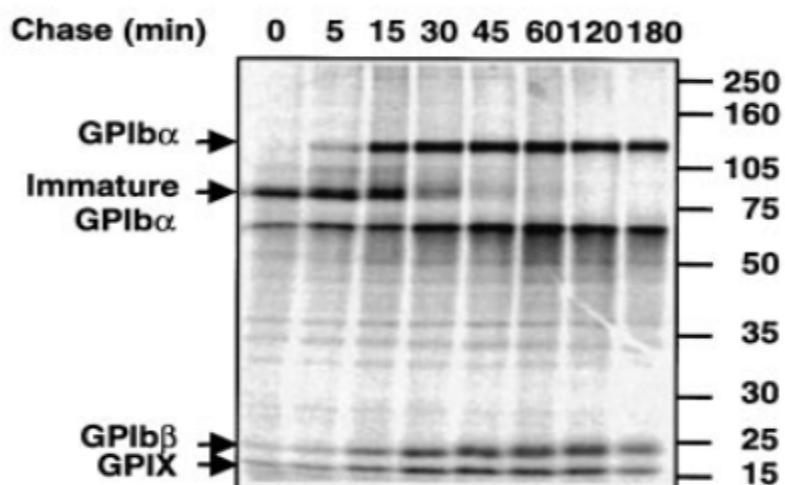
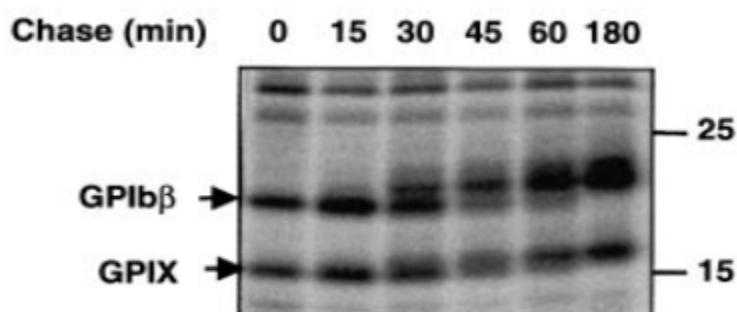
Une fonction potentielle pour le complexe exprimé dans les cellules endothéliales découle du travail de Beacham et al, qui ont suggéré que le complexe peut servir de médiateur à la fixation des cellules endothéliales à la VWF. Bombeli et al ont récemment proposé un

rôle pour le GP Iba des cellules endothéliales dans l'adhésion des plaquettes activées aux cellules endothéliales de la veine ombilicale. D'autres n'ont pas été en mesure de démontrer ce rôle et ont même mis en doute si l'expression du complexe sur ces cellules est significative. Si c'est le cas, comment et quand le complexe GP Ib-IX-V est exprimé dans les cellules endothéliales sont donc encore des questions ouvertes nécessitant une enquête plus approfondie.

Le complexe GPIb-IX-V est formé en quelques minutes dans le réticulum endoplasmique avant d'être transporté à travers les citernes de Golgi vers la surface. Avant d'y achever, ses polypeptides subissent un certain nombre de modifications post-transcriptionnelles, y compris l'ajout de glucides N- et O-linked, la modification des cystéines intracytoplasmiques de GP Ib β et GP IX par acylation avec des acides gras et la sulfatation des tyrosines dans le domaine de liaison de la GP Iba. Ces modifications sont susceptibles d'influencer les fonctions du complexe, et il est probable que les mutations qui perturbent l'une des modifications postranslatives *in vivo* entraîneront des formes variantes de BSS.[3]

Les études basées sur la transfection des cellules *in vitro* ont montré que l'assemblage des glycoprotéines pour former le complexe GPIb-IX-V se fait dans le réticulum avant d'atteindre la membrane plasmatische [78]. Cependant durant les premières minutes de suivi, les masses moléculaires apparentes étaient de faible intensité [79]. Le GP Iba était d'environ 70 kDa, chevauchant avec GP V (Figure 14 A). Cette forme à faible masse moléculaire de GP Iba correspondait à une forme intermédiaire de GP Iba partiellement N-glycosylée [29] mais n'ayant pas subi d'O-glycosylation [39]. Quant au GPIb β et GPIX, une augmentation plus modeste de 1 ± 2 kDa de la masse moléculaire initiale a été remarquée (Figure 14 B) [79]. Ce résultat suggère que les quatre polypeptides sont devenus très rapidement associés après leur synthèse et leur transport vers le réticulum endoplasmique. À ce stade le complexe N-glycosylé immature réside dans le réticulum endoplasmique ou le cis-Golgi et la maturation se fait ultérieurement dans les compartiments de Golgi tardifs [80].

La bande GPIba de 70 kDa a été progressivement remplacée par une forme de 125 kDa plus mature, et ce changement de masse moléculaire a été complété dans environ 30 ± 45 minutes de suivi. Cela s'explique principalement par l'addition de sucres O-linked dans le compartiment médian de Golgi [79].

A**MoAb : ALMA.12****B****MoAb : ALMA.16****Figure 14 : La maturation du complexe GPIb-IX-V :**

Des cellules CHOabIX ont été marquées par impulsions pendant 15 min avec un mélange [35S] de méthionine [35S] cystéine et poursuivies pendant les heures indiquées dans un milieu non marqué ; Dans cette figure, les masses moléculaires en kDa sont représentées à droite des gels. Les lysats cellulaires préparés à chaque moment ont été immunoprécipités avec Mabs ('MoAb') ALMA.12 (A) ou ALMA.16 (B). (A) GPIb α progressivement transformé d'une forme immature de 85 kDa à une forme mature de 125 kDa. Le décalage a été détecté à 5 min et complété en environ 30 ± 45 min après. La bande à E60 kDa n'est pas liée à la GPIb α et est également présenté lorsque des immunoprécipitations sont effectuées avec IgG1 non immunisée. (B) L'analyse de la partie inférieure d'un gel SDS / 7,5 ± 20% - (p / v) a révélé une légère augmentation des masses moléculaires de GPIb β et GPIX. Ces résultats indiquent que les trois sous-unités du complexe subissent des modifications après la traduction après leur assemblage précoce et la N-glycosylation. [79]

Quand le complexe atteint le trans-Golgi, l'addition de résidus d'acide sialique se produit. Par conséquent, O-linked résidus sont sialylés. Ce compartiment pourrait représenter un point de contrôle réglementaire dans la biosynthèse du complexe GP Ib/IX/V. 15 à 30 minutes après le complexe apparaît sur la surface des plaquettes [79].

Environ 160 minutes sont nécessaires pour que le complexe soit entièrement traité et apparaisse sur la membrane plasmique.

La formation précoce du complexe dans le réticulum endoplasmique suggère que l'assemblage est une condition préalable au transport. Une raison apparente pour un tel assemblage anticipé est d'empêcher les polypeptides d'être dégradés pendant le transport, une possibilité qui incite à étudier la stabilité des polypeptides lorsque la formation du complexe complet était empêchée (Figure 15) [80].

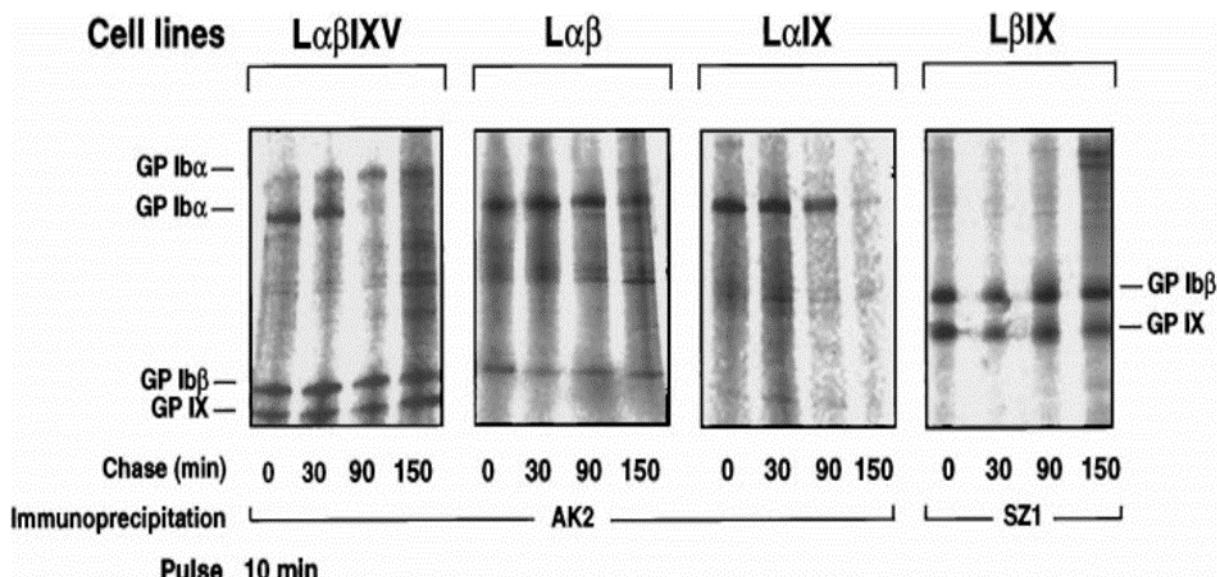


Figure 15 : la dégradation intracellulaire de la GP Ib α :

Les cellules L exprimant le complexe complet (cellules L α β IXV) ou le complexe partiellement (cellules L α β , L α IX et L β IX) ont été marquées par impulsion avec [35 S] cystéine et ont été poursuivies avec une cystéine non marquée jusqu'à 150 min. Les immunoprécipitations ont été avec AK2 dans des cellules exprimant GP Ib α et avec SZ1 dans des cellules L β IX. Une forme de masse moléculaire élevée de GP Ib α est apparue après 30 min de chase dans les cellules L α β IXV, alors que GP Ib α dans les deux cellules L α β et L α IX est resté largement sous une forme de masse moléculaire faible. AK2 a co-précipité GP Ib β dans les cellules L α β , mais pas GP IX dans les cellules L α IX. La figure représente quatre expériences distinctes.[80]

Environ 25% de GPIba exprimés sur des complexes incomplets GPIb-IX ou GPIb-IX-V sont dégradés par une voie non-lysosomale. Plus de 60% de GPIba sont dégradés par les lysosomes lorsqu'il est exprimé uniquement avec GPIb β ou GPIX. Cette constatation indique que la présence de GPIb β et GPIX est requise pour un traitement efficace et un ciblage de GPIba sur la membrane plasmique. L'absence de GPIb β ou de GPIX a augmenté le taux de dégradation de GPIba [80].

3. Interactions Entre Les Polypeptides Du Complexe GP Ib-IX-V :

Les études sur les cellules transfectées se sont également révélées utiles pour déterminer comment les polypeptides interagissent les uns avec les autres. À partir de ces études, il a été démontré que GP Iba et GP Ib β sont capables d'interagir en l'absence des autres polypeptides, tout comme GP Ib β et GP IX [81]. Ainsi, GP Ib β est le polypeptide qui relie l'interaction entre GP Iba et GP IX, au moins initialement, car aucune interaction entre les 2 polypeptides ultérieurs n'a pu être détectée en l'absence de GP Ib β . En revanche, les études d'inhibition des anticorps des lysats de plaquettes et du complexe GP Ib-IX purifié suggèrent que le GP IX est plus fortement associé à GP Iba qu'avec GP Ib β [82]. Des études de microscopie confocale et d'expression indiquent que l'interaction de GPV avec GP Ib-IX se fait par un lien direct avec GP Iba [83]. Cette association a une conséquence fonctionnelle directe, car l'expression de GP V dans les cellules cultivées est nécessaire pour que le complexe lie la thrombine avec une affinité élevée, même si le site de la liaison à la thrombine est sur GP Iba [84].

Par exemple, dans les études sur l'expression de GP Iba à la surface des cellules transfectées, il a été montré que ce polypeptide est exprimé à la surface des cellules de manière plus efficace lorsque GP Ib β et GP IX étaient cotransférés [85] (Figure 16 (A)). GP V n'est pas nécessaire pour une expression efficace du reste du complexe et n'a qu'un effet mineur sur l'expression de GP Ib-IX [83, 86, 87]. Cependant c'est le seul polypeptide du complexe qui peut être exprimé efficacement seul sur les surfaces des cellules transfectées, bien que son expression à la surface soit augmentée en présence du reste du complexe [83]. À partir de ces études, il a été suggéré que le syndrome de Bernard-Soulier (BSS) dans sa forme typique pourrait être causée par des mutations de GP Iba, GPIb β ou GP IX et peu susceptible d'être causé par des mutations de GPV [81, 83, 85].

Sae-Tung et al [88] ont étudié l'interaction entre GPIb β et GPIX. Ils ont montré que l'expression de GPIX de type sauvage sur la surface de la cellule était considérablement plus grande lorsqu'il a été cotransfектé avec GPIb β que lorsqu'il a été transfecté seul. En revanche, lorsque des polypeptides GPIX mutants ont été transfectés seuls ou en combinaison avec GPIb β , le GPIX n'a pas été détecté sur la surface de la cellule. (Figure 16)

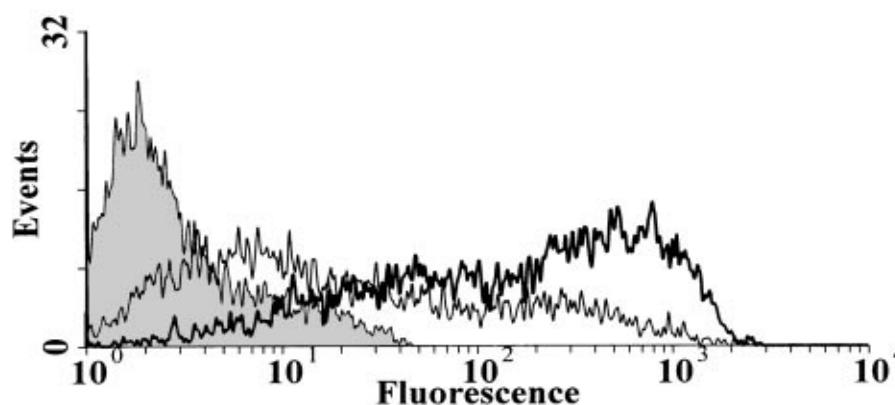
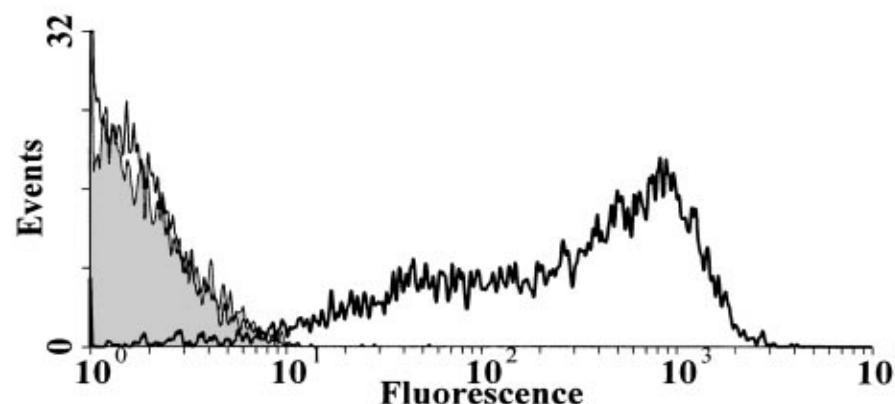
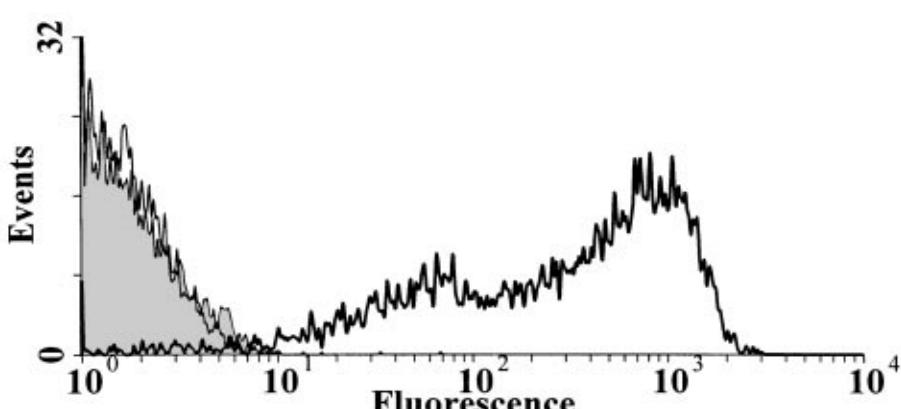
A.**GPIb alpha****B.****GPIX****C.****GPIb/GPIX**

Figure 16 : Les interactions entre les polypeptides du complexe :

Analyse de GPIb α et GPIX dans des cellules 293T transfectées avec GPIb α , GPIb β et GPIX. Les cellules 293T ont été transfectées de manière transitoire avec les GPIb α , GPIb β et GPIX de type sauvage ou avec GPIb α - GPIX de type sauvage et GPIb β mutant. Les cellules ont ensuite été analysées avec un anticorps polyclonal anti-GPIb α , l'anticorps anti-GPIX FMC25 ou l'anticorps spécifique complexe AK1 (chaque figure est représentative de quatre expériences différentes). (A) Dans les cellules transfectées avec les GPIb α , GPIb β et GPIX de type sauvage, il y a une augmentation significative de la fluorescence lorsque les cellules sont mises à réagir avec l'anticorps polyclonal anti-GPIb α (lignes en gras) par rapport aux cellules transfectées simulées (zone ombrée). Lorsque les cellules sont transfectées avec le GPIb β mutant et GPIb α de type sauvage et GPIX, GPIb α est détectable sur la surface de la cellule (ligne mince), mais réduit considérablement par rapport aux trois transfections de type sauvage. (B) Lorsque les cellules sont transfectées avec le GPIb α de type sauvage, GPIb β et GPIX, GPIX est facilement détectable sur la surface de la cellule (ligne en gras). Cependant, il n'y a pas de différence significative entre les cellules simulées transfectées (zone ombrée) et dans les cellules transfectées avec le GPIb α de type sauvage, le GPIX et le GPIb β mutant (ligne mince). Ainsi, GPIX n'est pas détectable lorsque le GPIb β mutant est transfecté avec le GPIb α de type sauvage et le GPIX (ligne fine). (C) GPIb α qui est exprimé sur la surface cellulaire de la transfection triple de type sauvage est reconnu par l'anticorps spécifique complexe AK1 (lignes en gras). En revanche, il n'y a pas de différence entre les cellules transfectées simulées (zone ombragée) et dans les cellules transfectées avec le GPIb α de type sauvage, le GPIX et le GPIb β mutant (ligne mince). Ainsi, GPIb α qui s'exprime sur la surface de la cellule (A) dans les transfections impliquant le GPIb β mutant n'est pas reconnu par AK1, ce qui confirme l'absence d'expression de surface de GPIX.[6]

4. Fonctions :

Les fonctions de GPIb-IX-V comprennent la régulation de l'adhérence plaquettaire à la matrice sous-endothéliale, les cellules endothéliales ou les leucocytes, l'assemblage de l'activité procoagulante sur les plaquettes activées, contrôle de la taille et de la forme des plaquettes et la signalisation, médiée en partie par l'association de GPIb -IX-V avec les récepteurs de signalisation accessoire et sa localisation dans des radeaux lipidiques. Beaucoup, sinon toutes, de ces interactions impliquant GPIb-IX-V, tant à l'extérieur qu'à l'intérieur de la membrane, sont intrinsèquement interdépendantes et co-réglementées. Le réseau d'interactions adhésives favorise la conversation entre les plaquettes, les cellules endothéliales et les leucocytes important pour la thrombose, l'inflammation et d'autres physiopathologies vasculaires.

Dans cette partie on va détailler chaque rôle, tout en précisant le mécanisme et les éléments impliqués.

a) Fonctions adhésives :

Dans cette section, les ligands de GPIb-IX-V seront discutés en fonction de leur rôle physiologique, de leurs sites de liaison et de leur régulation, en se concentrant principalement sur les développements récents dans ces domaines.

(1) Le Facteur de Von Willebrand (VWF) :

La VWF, une glycoprotéine adhésive multimérique présente dans le plasma et la matrice sous-endothéliale, est exprimée à la surface des cellules endothéliales activées. La sous-unité VWF mature de 2 050 résidus (B275 kDa) se compose de domaines modulaires : D0-D3-A1-A2-A3-D4-B1-B2-B3-C1-C2 ; VWF forme des multimères liés au disulfure allant jusqu'à 20 000 kDa (Figure 16). Les corps de Weibel-Palade dans les cellules endothéliales contiennent du VWF ultra-grand (ULVWF) qui, lors de la stimulation, est sécrété et attaché à la surface de la cellule endothéliale par une association possible avec la P-sélectine [89, 90]. La libération de VWF dans le plasma est contrôlée par la protéolyse d'ULVWF. L'ULVWF est hyperadhésif et nécessite un traitement à des formes plus petites et moins adhésives via la protéolyse par ADAMTS-13 (une désintégrine et une métalloprotéinase avec motif

thrombospondin), qui se clive à Tyr1605 / Met1606 dans le domaine A2 [91]. Dans la maladie de von Willebrand, le dysfonctionnement ou la déficience de VWF entraîne un saignement. D'autre part, l'augmentation des taux plasmatiques de ULVWF, en raison de la carence ADAMTS-13, par exemple, produit un phénotype prothrombotique, souvent associé à un thrombocytopénia purpura thrombotique (TTP) [92]. VWF est également sécrétée par les granulés α des plaquettes activées, où, comme dans les corps Weibel des cellules endothéliales, il est co-localisé avec la P-sélectine. Lorsqu'il est libéré lors de l'activation des plaquettes, il favorise l'agrégation plaquette in vivo [93].

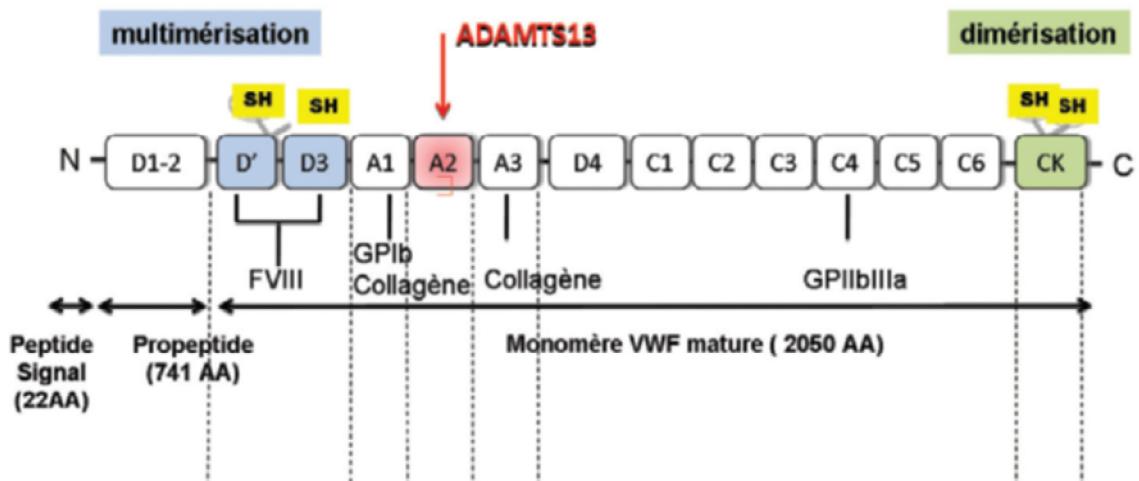


Figure 17 : Structure du pré-pro-VWF (précurseur monomérique) avec la localisation des sites fonctionnels d'interaction du VWF : [avec le FVIII (domaines D'D3), la GPIb α (domaine A1), le collagène sous-endothélial (domaine A3), la GPIb/III α (domaine C4)] et du site de protéolyse (Y1605-M1606) par l'ADAMTS13 (domaine A2). [94]

Le stress au cisaillement joue un rôle primordial dans la régulation de la liaison VWF aux GPIb-IX-V plaquettaires. Un équilibre entre l'effet des forces de cisaillement sur la dégradation ADAMTS-13-dépendante des multimères du VWF et l'activation de la liaison VWF à son récepteur plaquettaire est indispensable au contrôle de l'initiation et du développement du thrombus artériel. Normalement, l'interaction de VWF avec GPIb-IX-V nécessite un stimulus qui induit une conformation active du ligand et / ou du récepteur (figure 18). Cette conformation peut impliquer des niveaux pathologiques de contrainte de

cisaillement ou d'immobilisation de VWF sur le collagène ou d'autres composants de la matrice sous-endothéliale permettant à VWF de lier GPIba avec une affinité accrue [28, 89, 95]. Une telle régulation empêche la liaison indésirable de GPIba des plaquettes circulantes au VWF plasmatique. ULVWF, en revanche, est capable de lier spontanément GPIb-IX-V [96]. De même, les mutations congénitales de gain de fonction dans le domaine VWF A1 de liaison GPIba, ou dans la première boucle disulfure C-terminale de GPIba (Gly233 / Val ou Met239 / Val), induisent également la liaison VWF à GPIb-IX-V [13, 97].

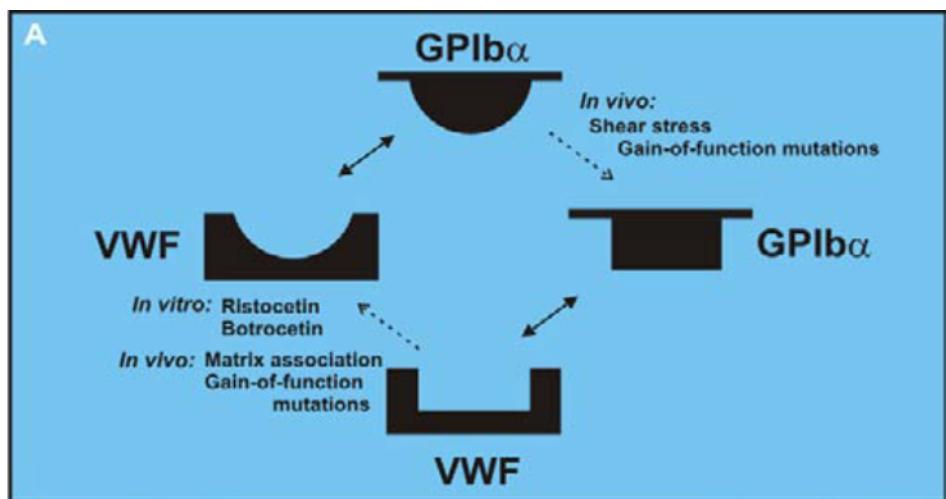


Figure 18 : Un schéma simple montrant comment l'interaction entre GPIba et VWF peut se produire après l'activation du récepteur et / ou du ligand ce qui entraîne une "conformation" compatible. Cependant, cette découverte n'exclut pas la possibilité d'une interaction entre les formes activées des deux ligands et récepteur.[98]

La dynamique de l'adhésion plaquettaire dépendante de GPIba / VWF au niveau cellulaire a été étudiée à l'aide de matrice endothéliale, de surfaces revêtues de collagène dans les chambres à flux et de microscopie intravital chez des souris ou des rats vivants, à faible taux physiologique ($<600 \text{ s}^{-1}$) taux de cisaillement physiologiques ($600-900 \text{ s}^{-1}$) et pathologiques ($> 1500 \text{ s}^{-1}$).

À un cisaillement élevé ou pathologique, l'interaction GPIba-VWF est nécessaire pour ralentir la vitesse des plaquettes suffisamment pour permettre l'activation des plaquettes par l'interaction collagène-GPVI et l'activation d' α IIb β 3 ou d'autres intégrines[93, 95, 99] . cette liaison GPIba-VWF s'adapte rapidement avec les conditions et la vitesse d'écoulement et permet une translocation ou un roulage rapide des plaquettes en contact continu avec la surface [3].

In vitro, la liaison de VWF à la GPIb-IX-V est induite par des modulateurs non physiologiques tels que le glycopeptide bactérien, la ristocétine ou la botrocétine de la toxine de serpent [100].

La liaison entre vWF et le complexe GP Ib-IX-V implique 282 acides aminés N-terminaux de GP Iba (Figure 19 et 11-B). Au moins trois régions dans la séquence semblent être impliquées soit en liant directement le vWF soit en modulant l'affinité de son interaction. La région englobée par la tyrosine sulfatée chargé négativement semble avoir une importance primordiale pour la liaison au vWF induite par la botrocétine. Bloquer la sulfatation de Tyr-276, Tyr-278 et Tyr-279 dans GP Iba recombinant inhibait fortement la liaison de vWF dépendante de la botrocétine et inhibait la liaison en présence de ristocétine dans une moindre mesure [101, 102].

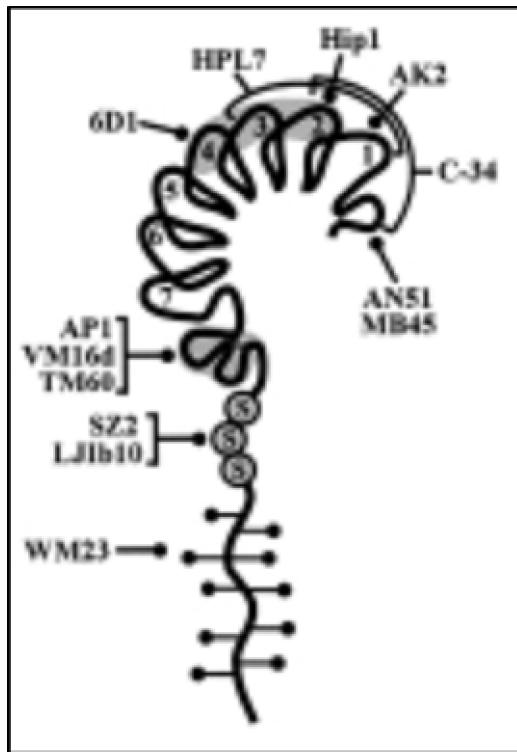


Figure 19 : les domaines liants de GP Iba :

Les résidus N-terminal 282 de GP Iba qui contiennent les sept répétitions riches en leucine, leurs séquences flanquantes en boucle disulfure N- et C-terminale et la séquence de la tyrosine sulfatée anionique. Les régions recouvertes représentent des éléments impliqués dans la liaison vWF (répétitions riches en leucine 2-4), Mac1 (séquence de tyrosine sulfatées) et la thrombine, le facteur XIIa et le kininogène à haut poids moléculaire (séquence C-terminal flancée / tyrosine sulfatée). Les domaines pour les épitopes anti-GP Iba sont également mentionnés correspondant aux résidus 1-282. L'anticorps WM23 reconnaît la région macroglycopeptide en aval de Glu-282 [103]

En outre, la mutagenèse de GP Iba recombinant montre que la perte de résidus anioniques entre Asp-252-Asp-277 a supprimé la liaison dépendante de la botrocétine et a fortement diminué la dépendance à la liaison ristocétine, tandis que le remplacement des résidus entre Glu-281-Asp-287 inhibait spécifiquement la liaison de vWF dépendante de la botrocétine [104]. Enfin, l'analyse fonctionnelle des anticorps monoclonaux anti-GP Iba ont montré que les anticorps avec des épitopes comprenant Tyr-276-Arg-293 ou affectés par clivage à 275/276 ou 282/283 (SZ2, ES85, VM16d) inhibent préférentiellement la liaison de vWF dépendante de la botrocétine aux plaquettes par rapport à la liaison induite par ristocétine [40]. Cette région semble également moins pertinente pour les interactions vWF

plaquettaires dépendantes du cisaillement car la SZ2 qui se lie spécifiquement à la séquence de la tyrosine sulfatée n'a aucun effet sur l'interaction de vWF-GP Ib dépendant du cisaillement [105].

Une deuxième région impliquée dans la liaison ou la régulation de l'interaction avec vWF est la région flanquante C-terminal, en particulier celle englobée par la boucle dissulfure entre Cys-209 et Cys-248. Cette région contient les mutations de type de gain de fonction (en anglais Gain-of-function mutations), Gly-233 à Val et Met-239 à Val, qui se produisent dans la maladie de von Willebrand [106]. Ces deux mutations augmentent la teneur en valine d'une région déjà valine-riche. Dong et ses collègues [107] ont récemment préparé 10 mutants exprimés dans des cellules CHO en tant que composants du complexe GP Ib-IX-V dans lequel les résidus non valine ont été changés en valine. En plus des deux mutations naturelles, deux mutations supplémentaires toujours de type gain de fonction ont été identifiées impliquant Asp-235 et Lys-237. Les quatre mutants de gain de fonction ont montré une augmentation de la liaison de la ristocétine et la botrocétine au vWF, bien qu'ils roulent plus lentement sur le vWF immobilisé par rapport aux cellules de type sauvage. Le domaine amino terminal isolé de GP Iba (1-302) revêtues sur des billes supporte également le roulement sur vWF immobilisé. Le domaine correspondant contenant la mutation Gly-233 à Val permet, en plus d'attacher au vWF, de diminuer la vitesse de translocation comme était montré sur les cellules CHO transfectées [108]. D'autres résultats ont conclu que cette région de GP Iba augmente d'affinité par conversion d'affinité, potentiellement équivalente à celle qui se produit dans le récepteur dans des conditions de cisaillement anormales.

La troisième région engagée dans la liaison vWF comprend la séquence flanquante N-terminale et la région répétée riche en leucine. De simples substitutions d'acides aminés, comme Leu-57 à Phe dans la première répétition riche en leucine, ou Ala-156 au Val dans la sixième répétition, sont associées à une forme du syndrome de Bernard-Soulier, où GP Iba est exprimé sous une forme dysfonctionnelle qui ne lie pas vWF [3]. Leucine-riche répète 2, 3 et 4 GP Iba ont été identifiés comme étant critiques pour l'adhésion vWF à GP Ib-IX-V. Conformément à cette découverte, la plupart des blocages fonctionnels par des anticorps monoclonaux anti-GP Iba ont été mappés à la séquence flanquante N-terminale et aux quatre

premières répétitions riches en leucine. Une analyse du rôle des résidus d'asparagine conservés dans les répétitions riches en leucine 1 et 6 de GP Ib plaquettaire suggère également que, plus les répétitions N-terminales jouent un rôle direct dans la liaison de vWF [109].

La régulation de l'interaction entre VWF et GPIb-IX est double. D'une part, cette interaction est régulée par des «changements conformationnels» dans le domaine A1 du VWF. La «conformation» active du VWF est induite lorsque le VWF est immobilisé sur les surfaces, lorsqu'il est lié au collagène dans la matrice sous-endothéliale ou sous forte contrainte de cisaillement. Dans des conditions expérimentales, la ristocétine et la botrocétine induisent également la liaison du VWF soluble au GPIb-IX, et donc à l'agglutination et à l'agrégation plaquettaires induites par GPIb-IX. D'autre part, la fonction de récepteur de GPIb-IX est également régulée par la signalisation intracellulaire. L'agrégation plaquettaire induite par la ristocétine et la liaison au VWF est inhibée par les antagonistes plaquettaires éléveurs de l'AMPc, la prostaglandine I2 et E1 [110, 111]. La protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA) phosphoryle le domaine cytoplasmique en Ser166 chez la GPIb β [47]. Une mutation conservatrice de Ser166 en Ala empêche la phosphorylation à Ser166 et entraîne une liaison renforcée de VWF à GPIb-IX exprimée dans les cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) [110, 112], suggérant que la phosphorylation de GPIb β régule négativement la fonction de liaison de VWF de GPIb-IX-V.

En plus de leur rôle dans la signalisation plaquettaire (détaillé ultérieurement dans la partie signalisation), les protéines adaptatrices 14-3-3 ζ participent efficacement à la régulation de la liaison GP Ib/IX/V-VWF. La déphosphorylation de GPIb β induit une «activation» de la liaison de VWF au GPIb-IX, qui est toutefois diminuée par l'inhibition de la liaison 14-3-3 ζ à l'extrémité C-terminale de GPIba, soit par mutagenèse, soit par un peptide inhibiteur myristoylé de l'interaction de GPIba- 14-3-3 ζ . Cet inhibiteur 14-3-3 inhibe également la liaison du VWF au GPIb-IX dans les plaquettes humaines [112]. Sur la base de ces résultats, un modèle à bascule « toggle switch » de la régulation GPIb-IX par 14-3-3 ζ a été proposé (figure 20). Néanmoins, les données selon lesquelles l'inhibiteur de l'interaction

14-3-3 ζ -GPIba diminue la liaison du VWF avec les plaquettes humaines suggèrent une cible potentielle pour le développement de médicaments antithrombotiques.

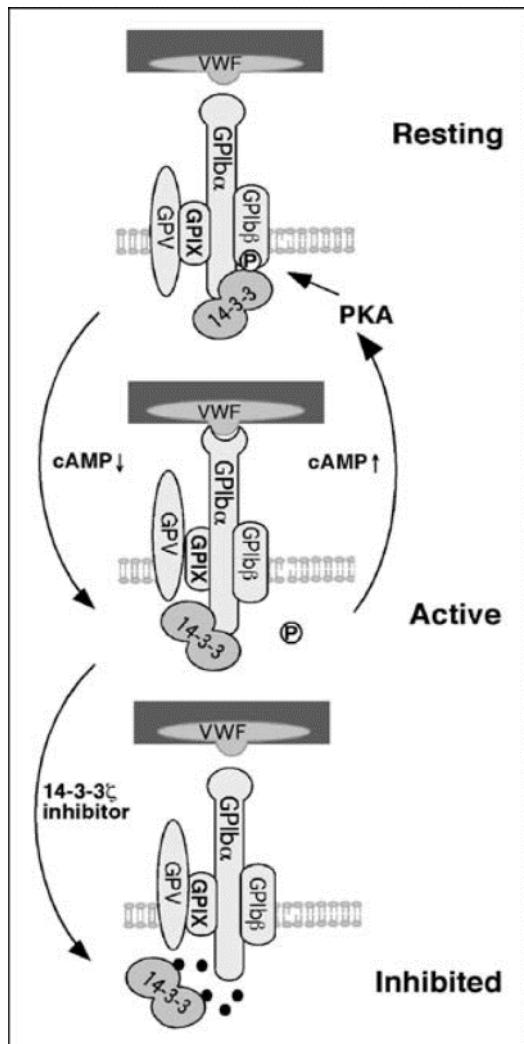


Figure 20 : un modèle « toggle switch » explique la régulation de la liaison de la GP Ib/IX/V au FVW :

Les augmentations de l'AMPc intracellulaire induisent la phosphorylation de GPIb β , permettant une interaction de 14-3-3 ζ avec GPIb α et GPIb β , bloquant GPIb-IX dans un état «fermé» ou «au repos». Une diminution de l'AMPc dissocie 14-3-3 ζ de GPIb β et active ainsi la fonction de liaison au facteur de von Willebrand (VWF). L'inhibition de la liaison 14-3-3 ζ à GPIb α perturbe le «toggle switch», inhibant ainsi la fonction de liaison de VWF au complexe GPIb-IX-V. Adapté avec la permission de Dai et al. [20]. PKA, protéine kinase A. [113]

(2) Thrombospondine :

Thrombospondin (TSP) est un ligand récemment identifié pour GPIb-IX-V ; l'interaction entre ces deux molécules est capable de supporter l'adhésion plaquettaire à des vitesses de cisaillement élevées (jusqu'à 4000 s⁻¹) en l'absence de VWF[114]. Le site de liaison de TSP sur GPIba chevauche partiellement le site VWF et est inhibé par les anticorps anti-GPIba AP1 et SZ2. La contribution relative de TSP-GPIba par rapport au VWF-GPIba dans la formation de thrombus induite par cisaillement n'est pas encore établie dans les différentes conditions physiopathologiques ; Cependant, la prévalence présumée de TSP dans la plaque d'athérosclérose indique probablement un rôle pathologique potentiel pour l'interaction TSP-GPIba. Le TSP est également susceptible d'affecter la formation du thrombus plaquettaire en inhibant le clivage du VWF par ADAMTS-13.[115]

(3) Collagène :

Les principaux récepteurs de collagène sur les plaquettes, GPVI et l'intégrine $\alpha 2\beta 1$, jouent tous les deux des rôles hémostatiques significatifs *in vivo* [116, 117]. Comme le domaine A1 du VWF se lie au GPIba et que le domaine A3 se lie au collagène, le GPIb-IX-V est également un récepteur majeur, mais indirect, du collagène sur les plaquettes via les interactions au VWF [118]. Le GPVI est le principal récepteur de collagène car l'engagement de GPVI par le collagène est un puissant déclencheur de l'activation plaquettaire et une déficience en GPVI affecte la formation de thrombus qui dépend du taux de cisaillement artériel [119-121]. Sarratt et ses collègues [122] ont suggéré il y a plusieurs années que la signalisation et l'adhésion, induits par le collagène, sont intimement et inextricablement liés et leurs études de plaquettes humaines, ou de plaquettes de souris dépourvues de GPVI et / ou $\alpha 2\beta 1$, soutiennent en outre cette vue. Comme sera discuté dans la partie de signalisation, GPIb-IX-V et GPVI sont physiquement et fonctionnellement associés aux plaquettes, agissant potentiellement comme des protéines de signalisation accessoires mutuelles [123]. À cet égard, Moog et ses collègues ont rapporté que le GPV se lie également au collagène, interaction plaquette-collagène [124].

(4) P-sélectine :

En 1999, Romo et ses collègues ont rapporté que la GPI α plaquettaire reconnaissait la P-sélectine; il s'agissait du premier exemple d'un contre-récepteur de surface cellulaire pour GPIb-IX-V [125]. La liaison de la P-sélectine à la GPI α est inhibée par les anticorps anti-GPI α AK2 et SZ2, ce dernier résultat d'anticorps suggérant l'implication de la séquence de tyrosine anionique sulfatée de GPI α dans la liaison (figure 11). De manière significative, l'interaction P-sélectine / GPI α fournit un mécanisme d'adhésion plaquettaire aux cellules endothéliales activées ou des plaquettes (murales) activées qui expriment la sélectine P. Les plaquettes de type sauvage et déficientes de sélectine P roulent sur l'endothélium stimulé *in vivo* grâce à la sélectine P endothéliale et indépendante de l'état d'activation des plaquettes [126, 127]. L'activation de l'endothélium résulte de la multiplication du nombre de plaquettes en interaction mais il n'y a pas d'interaction des plaquettes avec des cellules endothéliales activées ou inactivées déficientes en sélectine P, ce qui suggère que l'interaction entre les plaquettes et l'endothélium nécessite une P-sélectine endothéliale et un contre-récepteur plaquettaire susceptible d'être GPI α . À cet égard, les anticorps anti-GPI α atténuent les interactions des plaquettes et des leucocytes avec l'endothélium veineux du rat *in vivo*, induites par les endotoxines [128]. Dans les deux, granules α des plaquettes et les corps Weibel-Palade des cellules endothéliales, la sélectine P est co-localisée avec le VWF et est rapidement exprimé en surface après l'activation. P-sélectine ancre ULVWF à l'endothélium, fournissant une surface adhésive et un autre mécanisme pour l'adhésion plaquettaire dépendante de la GPI α aux sites de blessure ou d'infection. Ce comportement est important car GPI α interagissant avec la sélectine P ou la sélectine P / VWF permettrait aux plaquettes circulantes non activées d'adhérer à l'endothélium activé à des contraintes de cisaillement élevées[127]. Il existe des similitudes de structures et de fonctions entre GPI α et le récepteur leucocytaire pour la P-sélectine (P-selectin glycoprotein ligand 1 [PSGL-1])[97, 127]. Les deux récepteurs sont sialomucines et tous les deux possèdent une séquence anionique dans leur domaines de liaison au ligand (269 DEGTDLsYDsYsYPEED 283 pour la GPI α et 1QATEsYE_sYLDsYDFLPETE17 dans PSGL-1 ; sY=sulfotyrosine). En plus de supporter l'adhésion de leucocytes via PSGL-1 à P-sélectine sur des plaquettes activées ou les cellules endothéliales, la liaison de la P-sélectine soluble à PSGL-1 stimule également la libération de

microparticules porteuses de facteur tissulaire à partir de monocytes. Ces microparticules circulantes sont fortement prothrombotiques, impliquées dans la formation d'un thrombus, et favoriser l'activation de facteur VII [127, 129]. Le principal résultat de l'engagement de la PSGL-1 sur les leucocytes est l'activation à l'envers de l'intégrine $\alpha M\beta 2$, qui se lie à ICAM-1 sur les cellules endothéliales. De manière surprenante, $\alpha M\beta 2$ est encore un autre contre-récepteur pour GPIb-IX-V.

(5) $\alpha M\beta 2$ (Mac-1) :

L'intégrine leucocytaire, $\alpha M\beta 2$, a été identifiée comme un contre-récepteur de GPIb-IX-V en 2000, lorsqu'il a été proposé que cette interaction médie l'adhésion et la migration des leucocytes sur les thrombus vasculaires muraux [130]. Les cellules monocytaires et les lignées cellulaires transfectées par $\alpha M\beta 2$ adhérant à GPIba purifié ; cette liaison a été régulée par le domaine $\alpha M I$, qui est homologue au domaine A1 de VWF, qui se lie également à GPIba. L'adhérence leucocytaire $\alpha M\beta 2$ -dépendante est inhibée par le prétraitement des plaquettes avec la mocalargin, une métalloprotéinase cobra qui clive le domaine de liaison du ligand N-terminal de GPIba (Glu282 / Asp283), ou par les anticorps monoclonaux anti-GPIba, AP1 et VM16d.

Ces études confirment le rôle de l'interaction $\alpha M\beta 2$ / GPIb-IX-V dans la formation d'agrégats plaquettaires leucocytaires dans, par exemple, l'inflammation vasculaire associée à la thrombose ou à l'athérosclérose. D'autres preuves appuient un rôle des plaquettes adhérentes dans les premiers stades de la formation de la plaque athéroscléreuse [121]. Une deuxième fonction importante de l'interaction $\alpha M\beta 2$ / GPIb-IX-V peut être la clairance des plaquettes stockées à froid. La courte durée de vie des plaquettes qui ont été réfrigérées (< 15 ° C) même pendant une courte période avant la transfusion dépend du regroupement de GPIba induit par le froid, la clairance dépendante de $\alpha M\beta 2$ est accélérée par les macrophages hépatiques phagocytaires ou les cellules de Kupffer [131]. Le mécanisme de clairance implique l'activité lectin-like de $\alpha M\beta 2$ reconnaissant les résidus β -N-acétylglucosamine des glycanes N-liés sur GPIba, [132] qui peut avoir d'autres implications pour la GPIb-IX-V.

(6) Les ligands non-physiologiques :

L'un des problèmes dans l'analyse de l'agrégation et de la signalisation plaquettaires dépendantes de GPIba est que le principal ligand physiologique, le VWF, est multifonctionnel avec des sites de liaison pour d'autres récepteurs plaquettaires et ne se lie pas à GPIba dans des conditions statiques, nécessitant des modulateurs artificiels tels que la ristocétine ou la botrocétine. Les ligands non- physiologiques appropriés à des fins expérimentales comprennent un domaine multivalent recombinant le domaine GPIba liant VWF-A1 et contenant une mutation R543W (une mutation gain-of function trouvée dans la maladie de von Willebrand de type 2B) exprimée à la surface de cellules COS7 (Les cellules de ces lignées dérivent du tissu de rein de singe et sont souvent transfectées pour produire des protéines recombinantes pour des expériences de biologie moléculaire, de biochimie et de biologie cellulaire) [133].

Il existe deux catégories principales de ligands GPIb-IX-V non-physiologiques : les toxines du venin de serpent et les bactéries. Wijeyewickrema LC et al. en 2005 et Lu Q, et al. pour la même année ont discuté les protéines de venin de serpent ciblant la GPIba, qui inhibent la liaison au VWF ou induisent l'activation plaquettaire GPIba-dépendante (imiter le VWF) par la réticulation de la GPIba et / ou GPIba / GPVI [134-136]. Le rôle de la liaison des bactéries aux plaquettes par GPIba peut être d'une grande importance en pathologie où le risque thrombotique est augmenté. GPIba est une sialomucine à forte abondance sur les plaquettes, et l'acide sialique lié à la GPIba est reconnu par les protéines de la paroi cellulaire de Streptococcus gordonii comme l'un des nombreux mécanismes pour les interactions plaquettaires bactériennes ; Staphylococcus aureus emploie un mécanisme différent qui implique une interaction de pontage avec GPIba médiée par VWF ; encore un autre mécanisme est la liaison directe de Streptococcus sanguis au domaine N-terminal de GPIba [137-140].

b) Fonction pro-coagulante :

(1) α -Thrombine :

Il est connu depuis longtemps que GPIb-IX-V est un site de liaison à haute affinité pour l' α -thrombine sur les plaquettes, mais ce n'est que récemment que toutes les implications de cette interaction ont émergé. La thrombine peut activer les plaquettes par des mécanismes protéolytiques ou non protéolytiques et la GPIba intacte facilite la réponse plaquettaire à de faibles doses de thrombine, mais pas à des doses élevées. Par exemple, les plaquettes du syndrome de Bernard-Soulier dépourvues de fonction GPIba présentent une réponse altérée à la thrombine et un temps de latence prolongé avant l'agrégation [3]. D'autres récepteurs de la thrombine α sur les plaquettes humaines comprennent les récepteurs activés par la protéase G, PAR-1 et PAR-4.

L'interaction de la thrombine avec GPIba a deux rôles potentiels. Tout d'abord, la thrombine est impliquée dans la régulation de la coagulation en localisant la thrombine et le facteur XI sur GPIba. Deuxièmement, l'interaction de la thrombine avec GPIba peut activer les plaquettes de deux façons: en agissant comme un cofacteur pour l'activation thrombine-dépendante de PAR-1, ou en signalant directement via GPIba en l'absence de GPV [141]. La compréhension des interactions thrombine-GPIba a été avancé par la solution des structures cristallines du complexe - ou, plus précisément, des complexes, parce qu'il y a deux manières distinctes dans lesquelles la thrombine peut lier GPIba. Ces différentes interactions peuvent avoir de profondes conséquences à la fois sur l'activité de la thrombine et sur l'activation des plaquettes [142-145].

La liaison de la thrombine à la région N-terminale de GPIba (His1-Glu282) est inhibée par les anticorps anti-GPIba SZ2 qui correspond à la séquence tyrosine anionique / sulfatée Asp269-Glu282 et par VM16d, qui correspond au flanquement C-terminal séquence, 226-268 (figure 11). Les structures cristallines ont utilisé soit un fragment GPIba (résidus N-terminaux 1-290) et la thrombine inhibée par la Phe-Pro-Arg-chlorométhylcétone (PPACK), [143] ou GPIba 1-279 (avec des sites de glycosylation N-linked à Asn21 et Asn159 substitués par Résidus Glu) et la DFP-thrombine.91

Un complexe GPIba-thrombine implique principalement des résidus 151-284 de GPIba qui représente l'exosite I de reconnaissance de fibrinogène, en particulier le résidu 279. L'autre complexe implique principalement l'exosite II de thrombine se liant à l'héparine au contact des résidus 274, 275 et 277 de GPIba [145]. La thrombine liée à la GPIba (via l'exosite II) accélère le clivage de PAR-1 et l'activation des plaquettes, avec une augmentation de 6 à 7 fois le taux de kcat / Km pour le PAR- 1 protéolyse sur une surface plaquettaire où il y a intacte GPIba [144, 146, 147].

Par un mécanisme analogue, la thrombine associée à la GPIba via l'exosite II est également idéalement orientée pour se lier (via l'exosite I) et activer le facteur XI qui peut se lier à une sous-unité GPIba voisine [148]. Les deux interactions GPIba-thrombine permettraient également à la liaison croisée de la GP Iba, conduisant à une activation plaquettaire thrombinindépendante. Dans ce cas, le GPV intact dans le complexe GPIb-IX-V agit comme frein à l'activation plaquettaire en réponse à la thrombine, alors que l'élimination du GPV facilite l'activation plaquettaire GPIba / thrombine dépendante [141, 142]. La thrombine catalytiquement inactive induit la thrombose chez les souris déficitaires en GPV. En effet, le GPV plaquettaire est un substrat de la thrombine, et le clivage libère un fragment d'ectodomaine GPV soluble, GPVf1 (B69 kDa), qui déclenche ensuite l'activation plaquettaire GPIba / thrombine dépendante.

(2) Facteur XI

La liaison du facteur XI à la GPIba a été démontrée pour la première fois en 2002, fournissant un mécanisme inattendu pour localiser le facteur XI à la surface plaquettaire activée conduisant à une activité procoagulante accrue. Le fragment ectodomaine soluble de GPIba (glycocalicine) améliore nettement l'activation du facteur XI et l'addition de kininogène, peut approcher le taux d'activation à la surface plaquettaire activée [149].

Le site de liaison au facteur XI n'est pas identique à celui de la thrombine, bien qu'il y ait un certain chevauchement. L'anticorps anti-GPIba, SZ2, contre la séquence anionique / sulfatée (Asp269_Glu282) inhibe les deux interactions.

La liaison au facteur XI implique également des séquences LRR en amont de GPIba et il est concevable que la localisation de l' α -thrombine et du facteur XI sur GPIba accélère la

génération du facteur XIa [148-150]. La formation de ce complexe procoagulant nécessite une activation plaquettaire et semble impliquer un sous-ensemble de le complexe GPIb-IX-V situé à l'intérieur des radeaux lipidiques ; la perturbation des radeaux par l'épuisement du cholestérol inhibe le processus [151].

(3) Le kininogène

En 1999, il a été montré que le kininogène de haut poids moléculaire présente une liaison zinc-dépendante à la GPIba plaquettaire [152], une interaction qui à son tour peut réguler l'activation du facteur XI dépendante de la thrombine. Des études plus récentes suggèrent que la présence de kininogène de masse moléculaire élevée peut également améliorer l'adhésion leucocytaire des plaquettes en favorisant l'interaction entre GPIba et $\alpha M\beta 2$ [153]. Les anticorps monoclonaux anti-GPIba SZ2 (contre la séquence anionique Asp269_Glu282) et AP1 (contre C- la séquence flanquante terminale 201_225) inhibent différemment la liaison du kininogène et de l' $\alpha M\beta 2$, mais le mécanisme sous-jacent de la régulation de la liaison de $\alpha M\beta 2$ par le kininogène n'est toujours pas défini.

(4) Factor XII

La liaison du facteur XIIa à GPIba peut réguler l'assemblage du complexe procoagulant impliquant le kininogène / thrombine / facteur XI. Le facteur XII est en compétition avec la liaison au kininogène et inhibe significativement l'agrégation plaquettaire thrombine-dépendante associée à la liaison de la thrombine à GPIba. Le facteur XII n'affecte pas l'activation de PAR-1 par les peptides agonistes, qui agissent indépendamment de GPIba [154]. De plus, la déficience en facteur XII peut augmenter le risque thrombotique, ce qui peut être cohérent avec un rôle dans le contrôle de l'activité procoagulante et de la thrombose associée au GPIba.

(5) Factor VIIa

Le facteur VIIa humain recombinant peut être utilisé thérapeutiquement pour traiter une déficience en facteur XI ou d'autres défauts de coagulation et favorise l'activation du facteur X en facteur Xa indépendamment du facteur tissulaire à la surface plaquettaire activée. Des études récentes suggèrent que le facteur VIIa interagit non seulement avec le phospholipide anionique sur les membranes activées, mais peut également se lier au fragment extracellulaire de GPIba.

Cependant, à la différence des thrombines ou d'autres facteurs de coagulation qui se lient au domaine globulaire N-terminal, le facteur VIIa interagit avec la sialomucine de GPIba en aval du résidu 290 [155]. Cette découverte pourrait être significative pour l'utilisation thérapeutique de recombinant facteur VIIa.

c) La signalisation par le complexe GP Ib-IX-V

Il existe de plus en plus de preuves que la ligature du vWF et de la thrombine (et potentiellement de la P-sélectine et du Mac-1) par le complexe GP Ib-IX-V initie des événements de signalisation qui aboutissent finalement à une activation de l'intégrine, GP IIb-IIIa et l'agrégation plaquettaire [95, 156] (figure 21). Les événements de signalisation induits par la liaison de vWF au GP Ib-IX-V comprennent l'élévation du Ca²⁺ cytoplasmique et l'activation de la protéine kinase C (PKC) et de la tyrosine kinase [157-160]. La signalisation par d'autres récepteurs d'adhésion peut être initiée par un mécanisme de réticulation du récepteur [156]; des preuves récentes suggèrent que la signalisation dépendante de GP Ib-IX-V dans les plaquettes peut également impliquer un mécanisme similaire. Par exemple, un fragment protéolytique monomère de 39/34 kDa de vWF englobant le domaine A1 est capable de se lier au complexe GP Ib-IX-V et d'inhiber la liaison de la vWF native multimérique, mais n'active pas les plaquettes [156]. La topographie du complexe GP Ib-IX-V sur les plaquettes est également cohérente grâce à un mécanisme de réticulation. En accord avec le rôle de ce mécanisme dans la signalisation, deux études récentes ont montré l'association du complexe GP Ib-IX-V avec l'une des deux protéines contenant ITAM (Motif d'Activation des récepteurs Immuns basé sur la Tyrosine), FcγRIIa et FcRγ-chaîne [161, 162], importants pour la transduction du signal cellulaire. Les mesures de transfert d'énergie de fluorescence indiquent que GP Ibα et FcγRIIa sont proximaux et à moins de 10 nm l'un de l'autre [163]. L'agrégation des plaquettes par les stimuli FcγRIIa est bloquée par les anticorps anti-GP Ibα [163] et certains aspects de la signalisation dépendante du vWF sont inhibés par l'anticorps anti-FcγRIIa [162]. GP Ib et FcγRIIa co-immunoprecipité [163] comme le font les chaînes GP Ib et FcR [161]. Lors de la réticulation, les chaînes FcγRIIa et FcRγ deviennent doublement tyrosines phosphorylées dans le motif ITAM cytoplasmique, probablement par Src. Cela permet la liaison et l'autophosphorylation de syk (spleen tyrosine kinase) initiant

une cascade de signalisation qui conduit à l'activation de La phospholipase C γ (PLC γ 2) [161, 162]. L'agrégation plaquettaire induite par le collagène à travers la GP VI implique également une reticulation de la chaîne FcR γ et une cascade de signalisation similaire [164]. Dans les plaquettes, la contribution de ces deux voies à l'activation plaquettaire dépendante du vWF et à l'activation de l'intégrine GP IIb-IIIa n'est pas claire. Il y a environ 25 fois plus de GP Ib que de Fc γ RIIa sur les plaquettes, et bien que la quantité de FcR γ -chaîne n'a pas été quantifiée, une grande partie serait associée au récepteur de collagène plaquettaire, GP VI [165]. En outre, la liaison de vWF à GP Ib-IX est suffisante pour réguler positivement la fonction GP IIb-IIIa dans des cellules CHO co-transfектées de manière stable avec à la fois GP Ib-IX et GP IIb-IIIa [62].

Un second mécanisme possible par lequel le complexe GP Ib-IX-V peut transmettre des signaux dérive de la découverte que son domaine cytoplasmique qui porte des sites de liaison pour 14-3-3 ζ [166, 167]. Dans le complexe GP Ib-IX-V, un site de liaison majeur pour 14-3-3 ζ correspond aux quatre acides aminés C-terminaux de GP Iba, Gly-His-Ser-Leu [156, 166]. L'avant-dernière sérine à l'extrémité C de GP Iba, Ser-609, s'est récemment révélée être phosphorylée de façon stable dans les plaquettes au repos, mais la kinase responsable de celle-ci n'a pas été identifiée [168]. Un site de liaison supplémentaire a été identifié par analyse de peptides chevauchants correspondant aux séquences cytoplasmiques de GP Iba, GP Ib β , GP IX et GP V [166]. Ce site supplémentaire englobe le site de phosphorylation de PKA dans GP Ib β , RLSLTDP, avec une liaison d'affinité élevée nécessitant une phosphorylation de sérine [166, 169, 170].

Plusieurs études récentes suggèrent que le 14-3-3 joue un rôle critique dans la régulation et la médiation de la signalisation dépendante de GP Ib-IX-V vis-à-vis de l'activation de l'intégrine, GP IIb-IIIa [62, 66, 170]. Les cellules CHO co-exprimant l'intégrine GP IIb-IIIa et GP Ib-IX adhèrent et se propagent sur vWF dans un processus inhibé par les peptides RGDS et les anticorps contre GP IIb-IIIa. La liaison de vWF au GP Ib-IX a activé également la liaison du fibrinogène soluble à GP IIb-IIIa, indiquant que le GP Ib-IX médiait un signal cellulaire dans ce système conduisant à l'activation de GP IIb-IIIa. La délétion du site de liaison 14-3-3 dans GP Iba (GP Iba dépourvu des 18 acides aminés C-terminaux) a inhibé la

liaison de fibrinogène à GP IIb-IIIa médiée par GP Ib-IX et la propagation de cellules sur vWF. De plus, l'expression d'un mutant 14-3-3 dominant négatif inhibait la propagation des cellules sur la vWF, confirmant un rôle important pour 14-3-3 dans le déclenchement de la signalisation par GP Ib-IX. La propagation cellulaire a été bloquée par l'inhibiteur de phosphatidylinositol-3 (PI-3) kinase, la wortmannine, et l'inhibiteur de la protéine kinase C, la calphostine C, suggérant un rôle important pour ces deux molécules de signalisation dans l'activation de GP IIb-IIIa, GP Ib-IX-dépendante [62]. À cet égard, Munday et al. ont trouvé que la PI-3 kinase forme un complexe avec la GP Ib-IX-V et 14-3-3 ζ [66]. Le 14-3-3 ou GP Ib immunoprécipité provenant de fractions cytosoliques contenait l'activité enzymatique de la PI-3 kinase et un polypeptide de 85 kDa reconnu par les anticorps dirigés contre la sous-unité p85 de la PI-3 kinase. Après l'activation plaquettaire, le taux d'association entre ces espèces a diminué dans la fraction cytosolique. Cependant, une formation accrue du complexe entre 14-3-3 et GP Ib-IX et entre la kinase PI-3 et GP Ib-IX a été détectée dans les fractions cytosquelettiques de l'actine dérivées de plaquettes stimulées par la thrombine ou la botrocétine / vWF. Ces résultats sont cohérents avec une association entre la PI-3 kinase et la 14-3-3 avec GP Ib-IX qui favorise la translocation rapide de ces protéines de signalisation au cytosquelette activé, régulant ainsi la formation de molécules de signalisation phosphoinoside en 3 positions dans le compartiment du cytosquelette. En accord avec ces résultats, l'agrégation plaquettaire dépendante du cisaillement (un processus dépendant de la liaison de vWF à GP Ib) provoque également la dissociation de 14-3-3 du complexe GP Ib-IX-V [170] (figure 20).

Ces événements de signalisation semblent être étroitement régulés non seulement par la liaison 14-3-3 à la séquence C-terminale de GP Ib α mais aussi par la liaison de 14-3-3 à sa séquence de reconnaissance dans GP Ib β . Le traitement des plaquettes par la prostaglandine E1 ou la prostacycline inhibe l'activation plaquettaire et le réarrangement du cytosquelette plaquettaire par élévation de l'AMPc intracellulaire et activation de la protéine kinase A. Il n'y a qu'un nombre limité de substrats de la protéine kinase A dans les plaquettes dont l'une est la protéine liant l'actine mais aussi la GP Ib β , qui est phosphorylé dans la séquence consensus de 14-3-3 à Ser-166. Cette phosphorylation de GP Ib β inhibe la polymérisation de la F-actine sur l'activation des plaquettes, bien que le mécanisme par lequel cela se produit n'a pas été élucidé

[48]. Dans les plaquettes au repos, une proportion significative du complexe GP Ib-IX-V est associée au squelette membranaire. Lors de l'activation des plaquettes, par exemple par la α -thrombine, ou par liaison de vWF à GP Ib [171], il se produit une réorganisation spectaculaire du cytosquelette cellulaire avec la quantité de F-actine (Fibrillaire) doublée en quelques dizaines de secondes. L'activation de la gelsoline, par l'augmentation des niveaux de calcium cytoplasmique, cisaille les filaments d'actine du squelette membranaire en petits fragments qui agissent comme matrice pour l'organisation subséquente des filaments d'actine et la polymérisation pendant l'activation des plaquettes. Le complexe GP Ib-IX-V reste lié aux actines et est associé aux filaments d'actine cisaillés et est incorporé dans le cytosquelette plaquettaire activé [172]. Ainsi, la liaison 14-3-3 à GP Ib β peut agir comme un commutateur régulant la signalisation par le complexe GP Ib-IX-V et le réarrangement cytosquelettique plaquettaire.

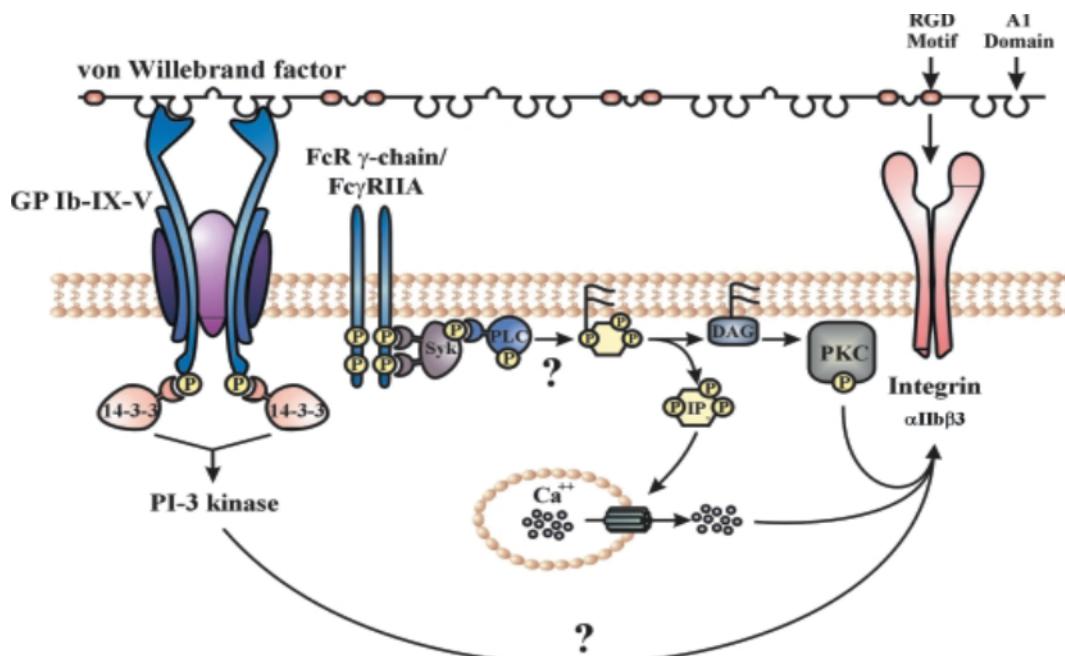


Figure 21 : Le processus de signalisation induit par le GP Ib/IX/V conduisant à l'activation de GP IIb-IIIa :

La GP Ib-IX-V associée à la 14-3-3 et PI-3 kinase et / ou d'autres molécules de signalisation cytosolique est impliquée dans l'activation « inside-out » de la GP IIb-IIIa. Les récepteurs Fc contenant de l'ITAM peuvent également jouer un rôle dans l'activation plaquettaire, GP Ib-IX-V-dépendante, où les réponses comprennent l'activation de la syk, la phospholipase C et la protéine kinase C, et l'élévation du Ca²⁺ cytosolique. (se référer au texte pour plus de détails) [103].

d) Le complexe GP Ib/IX/V et le cytosquelette plaquettaire :

Comme indiqué dans le paragraphe précédent sur la signalisation dépendante de GP Ib-IX-V, il existe une relation inséparable entre les réponses de signalisation plaquettaire et les réarrangements cytosquelettiques associés au changement de forme plaquettaire, à la propagation, à la sécrétion et / ou à l'agrégation. Le cytosquelette d'actine est susceptible à la fois de réguler et d'être régulé par la myriade de protéines de surface (par exemple GP Ib-IX-V, GP Ia-IIa), des protéines structurales (eg protéine de liaison à l'actine, , de la vinculine, de la tensine, de la paxilline), des protéines régulatrices du cytosquelette (par exemple calpaïne, gelsoline, rho, rac, etc.) et des molécules de signalisation (par exemple PI 3-kinase, 14-3-3, kinases et phosphatases) auxquelles elle est directement ou indirectement joint (examiné dans [173]). A cet égard, il a déjà été montré que la phosphorylation induite par la protéine kinase A de GP Ib β a un effet direct sur l'inhibition de la polymérisation de l'actine [48, 173]. Plus récemment, il a été montré que la liaison du vWF aux plaquettes normales ou les cellules CHO exprimant GP Ib-IX induit la polymérisation de l'actine et la réorganisation du cytosquelette [174]. L'élévation du Ca $^{2+}$ cytosolique était critique à ce processus. Réciproquement, des preuves récentes suggèrent que la fonction adhésive de GP Ib-IX-V peut être directement régulée par le cytosquelette. Comme indiqué par Mistry et al., L'inhibition de la polymérisation de l'actine par la cytochalasine D ou la latrunculine B, des cellules CHO exprimant GP Ib-IX-V ont nettement amélioré la liaison de vWF. En accord avec cette adhésivité accrue, le seuil de vitesse de cisaillement pour l'agrégation dépendant de la vWF a également été réduit de plusieurs fois (de 3 000 s $^{-1}$ à 500 s $^{-1}$). Ces résultats impliqueraient que la fixation de GP Ib-IX-V au cytosquelette dans les plaquettes au repos était un régulateur négatif de la liaison de vWF [175].

Une étude de Ware Jerry et al., sur un modèle souris de Bernard-soulier a démontré que le complexe GP Ib-IX-V participe directement à la maturation des mégacaryocytes et à la morphogenèse plaquettaire, tout en fournissant des preuves supplémentaires du rôle *in vivo* du complexe plaquettaire GP Ib-IX-V dans l'hémostase normale. [176]

II.LE SYNDROME DE BERNARD – SOULIER (BSS)

A. DEFINITION ET HISTOIRE DE DECOUVERTE :

Histoire du BSS a été décrite il y a presque 70 ans comme un trouble hémorragique congénital grave et potentiellement mortel. Le premier cas a été rapporté en 1948 par deux hématologues français Jean Bernard et Jean-Pierre Soulier, chez un jeune patient caucasien d'une famille consanguine affecté dès le début de sa vie avec des épisodes hémorragiques sévères, un saignement prolongé, une numération plaquettaire basse et de très grosses plaquettes. Ils ont appelé le trouble «la dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale» [177]. Ils ont commenté suite à leur constatation :

« Ces caractères très particuliers permettent, nous semble-t-il, d'isoler, dans le cadre des diathèses hémorragipares, une nouvelle variété de dystrophie thrombocytaire, hémorragipare, congénitale. »

En outre, dans le résumé à la fin de leur manuscrit, ils ont commenté :

« La dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale, ainsi définie, mérite de prendre place en nosologie, aux côtés de la thrombopénie essential, de la thrombopénie de Willebrand-Jurgens. »

Cependant, ils ont aussi écrit :

« Il persiste encore des inconnues que nous ne tenterons pas aujourd'hui de résoudre. »

Une des questions était la connexion entre les défauts vasculaires importants dans le syndrome et la pathologie de la maladie. Depuis lors, plusieurs personnes ont été décrites avec un trouble similaire et dont les parents sont proches [178].

En 1948, la base moléculaire de BSS était inconnue. Le premier indice de l'anomalie moléculaire affectant les plaquettes des patients atteints de ce trouble est venu en 1969 du travail de Gröttum et Solum, [179] qui ont noté une mobilité électrophorétique réduite des plaquettes en raison d'une diminution marquée de la concentration de l'acide sialique sur leurs membranes. Par la suite, Howard et al [180] aussi Caen et Levy-Toledano [181] ont trouvé que les plaquettes de patients atteints de BSS ne s'agréguaient pas à la ristocétine, un peptide antibiotique connu pour agréger les plaquettes normales mais pas les plaquettes des patients

souffrant de la maladie de von Willebrand. Weiss et al [182] en 1974 ont prolongé cette observation en démontrant un défaut dans la capacité des plaquettes BSS à adhérer au sous-endothélium aortique du lapin. Ils ont également suggéré que le défaut résultait de l'absence d'un récepteur du facteur von Willebrand (vWF) sur la surface des plaquettes. De nombreuses autres anomalies phénotypiques ont été décrites dans le BSS, y compris l'agrégation plaquettaire défectueuse au vWF bovin [180, 183], l'anomalie de la teneur en phospholipides membranaires [184, 185] et l'activité coagulante [183, 184], mais aussi les caractéristiques morphologiques qui comprennent les plaquettes géantes et la structure du cytosquelette désordonné [186, 187].

La nature du récepteur du vWF manquant a été suggérée en 1975 lorsque Nurden et Caen [188] ont démontré que 1 des 3 protéines majeures carbohydrates contenant les protéines, sur la surface des plaquettes, la glycoprotéine I, était pratiquement absente chez les patients atteints de BSS. Le défaut biochimique a été défini plus avant dans les laboratoires de Clemetson et al [189] et Berndt et al, [190] quand ils ont démontré, chez des patients non apparentés avec BSS, des carences de 4 polypeptides : glycoprotéines (GP) Iba, Ibb, IX et V. Ces polypeptides s'associer à la surface des plaquettes pour former un récepteur appelé le complexe GP Ib-IX-V.

L'importance de ce récepteur pour l'hémostase normale est peut-être mieux illustrée par l'histoire clinique, du patient original, décrite par Bernard et Soulier [191]. En tant qu'enfant et jeune homme, ce patient a souffert de nombreux problèmes de saignement, notamment saignements prolongés après extraction dentaire, une hémorragie cérébrospinale mortelle, et des hématomes orbitaires et périorbitaires après un accident. Il est décédé à l'âge de 28 ans suite à une hémorragie intracrânienne après une bagarre.

Actuellement, le syndrome est connu sous différentes appellations : Syndrome de Bernard-Soulier (BSS), La dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale ou encore le syndrome des plaquettes géantes [5]. Il s'agit d'une thrombopénie constitutionnelle macrocytaire de transmission autosomale récessive ; due à un déficit quantitatif et/ou qualitatif du complexe GPIb-IX-V responsable d'un problème d'adhésion des plaquettes au facteur Willebrand. Il se caractérise par une tendance hémorragique d'intensité variable, des

plaquettes sanguines géantes et une thrombopénie légère à profonde [3]. Causé par des mutations en GP1BA, GP1BB, and GP9 ; trois des quatre gènes codant pour les sous-unités formant le complexe GP IB/IX/V. Le défaut est limité à la lignée mégacaryocytaire / plaquettaire. Le lien entre le génotype et le phénotype est devenu une possibilité prévisible toutefois il demeure sous-diagnostiqué et pourrait être plus prévalent que prévu.

B.LA PLACE DU BSS PARMI LES AUTRES THROMBOPATHIES CONSTITUTIONNELLES

Plus de 20 gènes ont été décrits comme responsables de thrombopénies constitutionnelles. Le mode de transmission peut être lié à l'X, autosomique dominant ou autosomique récessif (homozygote ou hétérozygote composite). Les formes à transmission autosomique récessive sont très souvent liées à un contexte de consanguinité. Différents paramètres de diagnostic ont été utilisés pour classer les thrombocytopénies héréditaires, y compris le degré de saignement, le trait de transmission, la fonction plaquettaire et la cinétique, et les anomalies cliniques.

La classification la plus répandue des thrombopénies constitutionnelles est celle basée sur la taille plaquettaire évaluée par la mesure du volume plaquettaire moyen (VPM) par les automates ou la mesure de la taille des plaquettes en microscopie sur frottis sanguin coloré au May-Grünwald-Giemsa.

On distingue trois groupes : 1^{er} groupe avec des macroplaquettes ou des plaquettes géantes (taille > 8 µm), le 2^{ème} groupe avec des plaquettes de taille normale normocytaire (entre 4 et 8 µm) et le 3^{ème} groupe avec des plaquettes de petite taille microcytaire (< 4 µm). D'autres classifications prennent en considération la présence ou non de manifestations extra-hématologiques (thrombopénies syndromiques) [192]. (Tableau 2)

Tableau 2 : Principales thrombopénies constitutionnelles. Classification en fonction de la taille des plaquettes et du caractère isolé ou syndromique

	Thrombopénie ISOLÉE	Thrombopénie SYNDROMIQUE
Micropaquettes	<ul style="list-style-type: none"> • Thrombopénie liée à l'X 	<ul style="list-style-type: none"> • Wiskott-Aldrich
Normopaquettes	<ul style="list-style-type: none"> • Amégacaryocytose congénitale • Thrombopénie familiale autosomique dominante liée au chromosome 10 • Thrombopénie familiale et prédisposition aux leucémies aiguës par mutation du gène AML1* • Thrombopénie ANKRD26 • Thrombopénie Québec • Thrombopénie avec mutation du cytochrome C 	<ul style="list-style-type: none"> • Thrombopénie avec absence de radius • Syndrome IVIC • Amégacaryocytose avec synostose radio-ulnaire
Macroplaquettes	<ul style="list-style-type: none"> • Syndrome de Bernard-Soulier* • Syndrome des plaquettes grises* • Pseudo-Willebrand plaquettaire • Thrombopénie liée à l'X et GATA1 • Thrombopénie méditerranéenne • Syndrome MYH9 	<ul style="list-style-type: none"> • Thrombopénie Paris-Trousseau • Syndrome de Di George

* Thrombopénie associée

C. TRANSMISSION ET VARIANTS :

Les thrombopathies constitutionnelles sont généralement transmises sur le mode autosomal récessif. Les études de biologie moléculaire menées sur des patients affectés en BSS, ont rendu ténue la distinction entre une forme typique et une forme variante

1. Forme typique :

La forme classique du syndrome de Bernard-Soulier est transmise selon un mode autosomique récessif, ce qui signifie que les deux parents doivent être porteurs du gène défectueux (même s'ils ne sont pas atteints de la maladie) et le transmettre à leur enfant. On parle du **Syndrome de Bernard-Soulier variant biallélique** [193]. Comme tous les troubles qui se transmettent de cette façon, il est plus répandu dans les régions du monde où le mariage entre proches parents est commun. Les membres de la famille ayant un seul allèle mutant (**porteurs du BSS**) sont habituellement asymptomatiques avec des numérations plaquettaires normales. Néanmoins, ces porteurs de BSS pourraient avoir des plaquettes légèrement agrandies et une expression réduite du complexe GPIb-IX-V, ainsi qu'une réponse au RIPA (RadioImmunoPrecipitation Assay : tampon de lyse pour extraction des protéines) modérément réduite [194].

2. Formes variantes :

Il était rapporté, exceptionnellement, une forme à transmission autosomique dominante dit **Le syndrome de Bernard-Soulier variant monoallélique**, également souvent dénommé **variant Bolzano**, pour le nom de la ville de l'un des premiers patients découvert. Classé avant sous le nom de macrothrombopénies méditerranéennes. Il est décrit comme une forme atténuée de syndrome de Bernard-Soulier (BSS). Néanmoins le terme exact définissant cette pathologie a été proposé par Noris *et al.* comme « syndrome de Bernard-Soulier monoallélique dominant », afin de le distinguer officiellement du BSS classique. Les GP Ib et GPIX sont détectables à une concentration normale ou subnormale, mais sont anormales qualitativement. La cytologie et la clinique sont identiques à la forme typique [10, 11, 194].

En plus du trouble produit par les mutations de la lignée germinale, le BSS acquis par mutation somatique de cellules souches de la moelle osseuse a également été décrit. Deux cas ont été décrits en association avec une myélodysplasie (chez les enfants) [195, 196], et un cas a été décrit chez un patient atteint de leucémie myéloïde aiguë (M6) [196]. Chez un patient présentant un syndrome myélodysplasique et une monosomie 7, deux populations de plaquettes ont été identifiées dans son sang, une population de plaquettes normalisées avec des niveaux normaux du complexe GP Ib-IX-V à leur surface et une autre des grandes plaquettes dépourvues du complexe [195]. Cette dernière population était apparemment produite par le clone de moelle anormal. Ce patient est décédé d'une leucémie aiguë peu de temps après l'acquisition de la maladie [3].

D. PREVALENCE ET STATISTIQUES :

Ce syndrome est extrêmement rare car seulement une centaine de cas ont été rapportés dans des articles publiés, principalement dans les populations du Japon, d'Europe et d'Amérique du Nord. La fréquence des BSS homozygotes est estimée à 1/1 000 000 et celle des BSS hétérozygotes à 1/500. Cette basse fréquence pourrait probablement s'expliquer par le mauvais diagnostic et d'une sous-déclaration. Une autre raison est que malgré la possibilité que le trouble soit causé par la mutation de l'un des 3 gènes (et peut-être 4), la compacité de ces gènes diminue la fréquence de mutation aléatoire. La faible fréquence de mutation à ces locus se reflète également dans le fait que la majorité des cas rapportés sont homozygotes pour le même allèle, ayant hérité de 2 allèles mutants de parents apparentés au sang.

Vue le nombre réduit des cas décrits dans la littérature il semble n'y avoir aucune préférence genre pour le BSS. Les hommes et les femmes sont concernés par cette maladie, le ratio hommes / femmes est de 1: 1 [8].

Le syndrome a été plus étudié dans les populations d'Europe, d'Amérique du Nord et du Japon.

Des équipes italiennes ont rapporté deux études avec des effectifs importants (patients et familles) sur le syndrome de Bernard et Soulier (BSS).

■ La première de ces études a été effectuée par un consortium international sur l'analyse des aspects cliniques et moléculaires du BSS [197]. La plupart des mutations décrites dans les gènes GP1BA, GP1BB et GP9 sont en rapport avec la transmission classique du BSS de forme autosomique récessive responsable d'une anomalie de l'adhésion plaquettaire très symptomatique alors que, dans certaines familles, une forme atténuée de transmission autosomique dominante s'exprime par la présence de macroplaquettes avec saignements. Dans le contexte d'une pathologie extrêmement rare, l'objectif du consortium international était de pouvoir regrouper un nombre significatif de familles. Cette étude concernait 165 familles distinctes, dont la moitié n'avait jamais été décrite auparavant et pour lesquelles les résultats d'études moléculaires avaient permis d'identifier plus de trente nouvelles mutations. Dans cette série qui représente la plus grande jamais rapportée, 65 sujets non apparentés, principalement originaires de France, d'Italie et du Japon, ont des mutations réparties dans le

gène GP9 ($n = 23$), dans le gène GP1BB ($n = 29$) et dans le gène GP1BA ($n = 13$). Dans 53 cas, la mutation est exprimée à l'état homozygote alors que 13 cas sont hétérozygotes composites, les deux autres étant des mutations exprimées à l'état hémizygote dans un contexte de délétion 22q11 de syndrome de Di George associé.

Les patients de cette étude sont âgés de 18 ans en moyenne (0 à 75 ans) et le sex-ratio F/M est de 1,4. On signale une errance diagnostique fréquente (26 cas pris en charge pour PTI avec traitement par corticoïdes, immunoglobulines et aussi splénectomie). La quasi-totalité des cas est associée à un syndrome hémorragique plus ou moins marqué (scores OMS de 1, 2, 3 ou 4, respectivement, pour 9, 18, 19 et 10 patients). Le chiffre moyen de plaquettes était de 64 G/L (24 à 130) en lecture cytologique optique alors que la lecture automatisée majorait la thrombocytopénie à 45 G/L (5 à 125). Les explorations montraient aussi une taille plaquettaire significativement plus grande que celle des contrôles, une absence d'agglutination en présence de ristocétine, une absence d'expression de GPIb/IX/V en cytométrie de flux chez tous les patients. L'expression des glycoprotéines de surface était variable selon le type de mutation (GP1BA souvent indétectable en cas de mutation de GPIBA et d'expression plus importante [8 % et 17 %] pour les patients avec mutation de GP1BB et GP9, respectivement). L'expression de GPIX était de 14 %, 8 % et 25 % en présence des mutations de GP9, GP1BB et GPIBA respectivement. Dans tous les cas, GPV avait une expression plus importante ($> 30\%$).

Ce travail représente la plus grande série de patients avec BSS complètement caractérisés sur le plan génotypique et phénotypique. Cette série devrait être complétée par 100 autres cas qui devront encore être inclus pour contribuer à l'étude de corrélation génotype/phénotype que souhaite établir ce groupe.

■ Une autre étude rapportant la présentation clinico-biologique de formes particulières de BSS a été présentée à partir de 103 cas issus de 42 familles [194], avec un phénotype intermédiaire lié à une mutation monoallélique Ala156Val de la GP Ib α déjà publiée sous l'appellation de mutation Bolzano. La publication initiale de cette forme de BSS de transmission autosomale dominante était fondée sur la description de 6 familles en 2001 initialement étiquetées de « macrothrombocytopénies méditerranéennes » [11]. Le travail présenté est le résultat d'un screening pour la mutation Bolzano de tous les cas adressés pour

une macrothrombocytopénie héréditaire non syndromique, de transmission autosomique dominante. Cela a abouti à l'identification de 42 cas non apparentés auxquels les études familiales ont permis d'ajouter 61 cas. L'ajout de ces cas aux 6 familles initialement décrites constitue un groupe de 210 patients porteurs de la mutation Bolzano dans 48 familles, ce qui, fait de cette dernière la mutation la plus fréquemment responsable de thrombocytopénie héréditaire en Italie. Les patients étudiés ont un âge moyen de 34 ans (1-93). Un diagnostic erroné de purpura thrombopénique idiopathique (PTI) avait été porté dans 7 cas pour lesquels les traitements avaient comporté des corticoïdes, des Ig IV et, parfois, une splénectomie. Les patients porteurs de cette thrombocytopénie héréditaire présentent un phénotype hémorragique variable (42 % de cas avec des saignements récurrents, mais seulement 5 cas avec antécédent de transfusion plaquettaire). Il est intéressant d'observer que 19 femmes ont accouché (32 accouchements) sans transfusion plaquettaire avec un seul saignement rapporté. Sur le plan chirurgical, 9 cas d'exactions dentaires ou autres interventions n'ont pas été hémorragiques sans prévention particulière. Le chiffre de plaquettes est habituellement modérément abaissé et les plaquettes de grande taille expriment un taux intermédiaire de GPIb/IX/V (50 % de contrôles sains). L'agrégation en présence de ristocétine n'est anormale que pour 22 % des patients. Le taux de thrombopoïétine est augmenté à environ deux fois la normale, comparable aux taux observés dans le PTI.

E.LA GENETIQUE DU BSS :

Jusqu'à 2010, plus de cinquante mutations responsables de BSS ont été décrites, toutefois et à partir du grand projet « Spectrum of the mutations in Bernard-Soulier syndrome » mené en 2014 par plus de 35 chercheurs connus pour leurs contributions dans la maladie du BSS à travers le monde, le nombre des mutations en cause a augmenté à 111 mutations qui touchent les 3 gènes codants pour GP Iba, GP Ib β et GP IX. Ces défauts peuvent être classés en trois groupes :

- Des mutations faux-sens ou des délétions courtes, entraînant souvent un complexe anormal et / ou inadapté avec une réduction significative de l'expression protéique sur la surface des plaquettes.
- Des mutations non-sens donnant des sous-unités tronquées, souvent sans le domaine transmembranaire.
- Des insertions ou des délétions de décalage du cadre de lecture « frameshift » conduisant à un nouveau polypeptide avec un codon arrêt prématué [5, 8].

La première mutation a été détectée dans une famille avec transmission autosomique dominante. Cette mutation était une mutation W343X non-sens (W359X si à partir de ATG) dans le gène codant pour GP Iba, conduisant à une protéine tronquée [198]. Finch et al. [199], ont utilisé la technique du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) et ont pu démontrer que GP1BA n'est pas le seul gène responsable du BSS et que là où les mutations dans d'autres gènes pourraient être à l'origine du BSS. Cette hypothèse a été confirmée par l'identification de deux mutations faux-sens différentes dans le gène GP9 (également appelé GPIX), D21G et N45S, dans une famille avec transmission autosomique récessive [200]. Les premières mutations du gène GP1BB ont été identifiées en 1997 sous forme de mutations hétérozygotes composées Y88C et A108P [201]. À l'heure actuelle, plus de 111 mutations faux-sens, non-sens ou décalage de cadre de lecture « frameshift » ont été rapportées chez GP1BA, GP1BB ou GP9, principalement dans le BSS biallélique. Néanmoins, des mutations A156V (mutation de Bolzano), N57H, N41H, Y70D et L73F GP1BA ont été rapportées dans le BSS monoallélique et induisent une

macrothrombocytopénie moins sévère. Aucune mutation n'a été identifiée dans le gène GP5, codant GPV [178, 193, 202]. Deux variantes BSS rares ont également été décrites. Dans la première variante, une mutation dans la région 5' UTR de GP1BB altère la liaison de GATA1 [203] et conduit à une diminution du niveau de transcription de GP1BB. Dans la seconde variante, une mutation biallélétique N110E dans GP1BA modifie la maturation correcte du transcript [204]. La figure suivante résume les mutations les plus connues qui touchent les gènes des GP Iba, GP Ib β et GP IX.

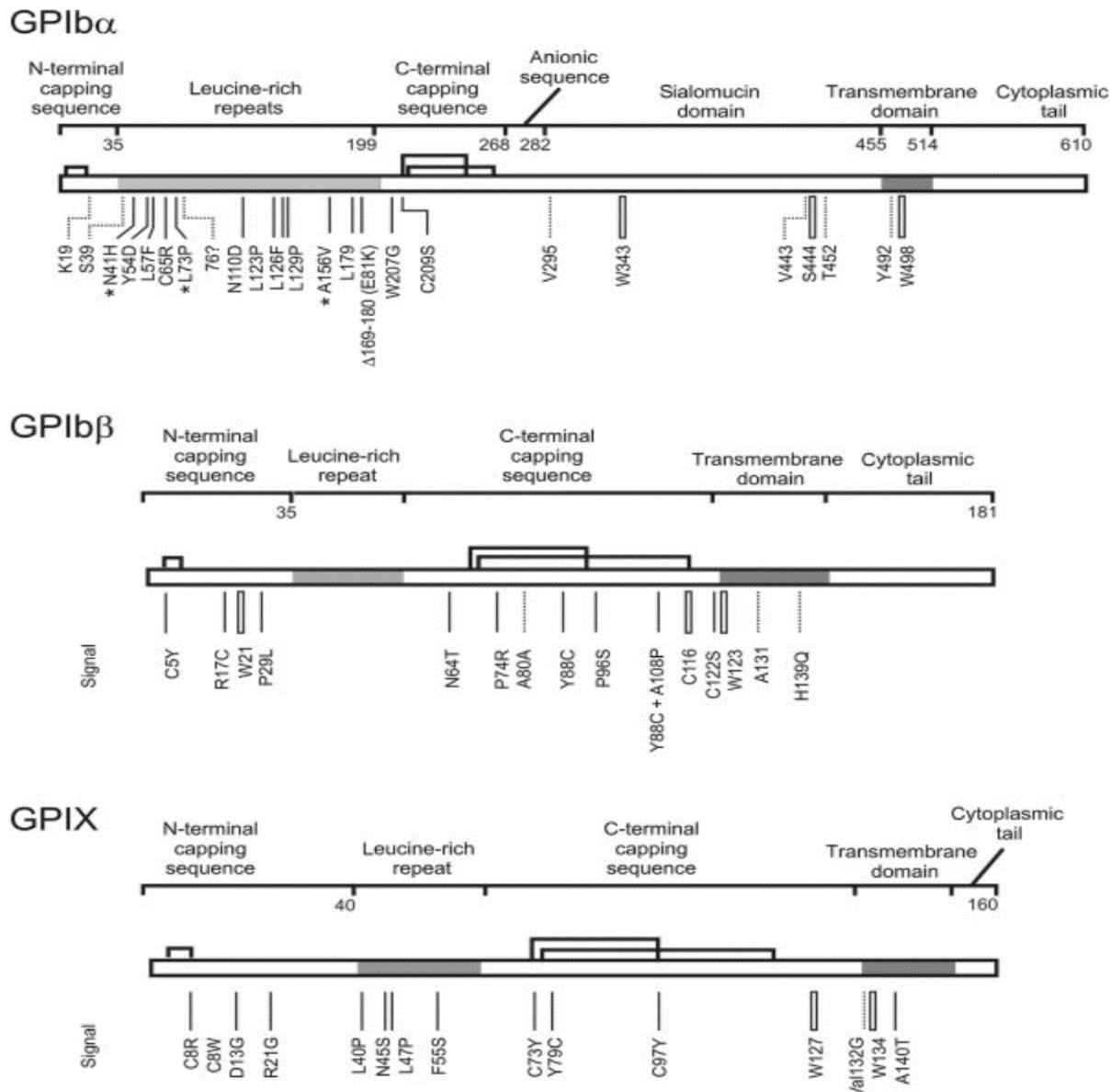


Figure 22 : Carte montrant les emplacements des mutations dans les régions codantes de GPIba, GPIb β et GPIX .

Les types de mutation sont des mutations faux-sens ou des délétions courtes (lignes pleines), des mutations non-sens conduisant à un arrêt prématûr (lignes ouvertes), ou des mutations entraînant un décalage du cadre conduisant à un codon stop (lignes pointillées). Des mutations de troncature se produisent également dans les séquences signal de GPIba ou GPIX. Les mutations à transmission autosomique dominante sont indiquées par un astérisque. La variante de Bolzano est A156V dans GPIba. Les positions des liaisons disulfures sont indiquées dans les séquences de coiffage. La figure est basée principalement sur les travaux de Lopez et al [3], Lanza [5], et Savoia et al.[193] (non exhaustive de toutes les mutations connues.) [178]

1. Les Mutations A L'origine Du BSS Typique :

a) GP1BA :

Quarante-cinq mutations différentes ont été identifiées dans ce gène. En plus des trois changements de cadre de lecture, p.Leu8_Leu10del (dans BSS3), p.Asn185_Glu197delinsLys (dans BSS57) et p.Leu195del (dans BSS8, BSS9, et BSS17), 10 sont des mutations faux-sens réparties dans presque tous les LRR. Tous les 10 mutations non-sens et les 21 mutations de type frameshift, sont situés dans le domaine extracellulaire sauf pour p.Tyr534Cysfs * 82, p.Tyr534Leufs * 83 et p.Trp540 *, qui atteignent le domaine transmembranaire, et pour p.Gln587 *, qui tronque le domaine cytoplasmique. Une nouvelle mutation (c.1A> C) détruit le codon d'initiation, dont l'effet sur la synthèse des protéines n'a pas été déterminé [197].

b) GP1BB :

Les 38 mutations ponctuelles distinctes identifiées dans ce gène sont principalement des altérations de faux-sens. Ils affectent principalement les régions extracellulaires, y compris le peptide signal (N = 1), LRRNT (N = 2), LRR (N = 4), ou LRRCT (N = 12). Il existe également des mutations non-sens (N = 6) et de décalage du cadre de lecture (N = 8) dans les domaines extracellulaires ou transmembranaires. Aucune mutation n'a été identifiée jusqu'à présent dans la courte queue cytoplasmique. La dernière mutation ponctuelle est g.-160C> G, qui affecte la région promotrice [203]. C'est un exemple rare de substitutions de nucléotides qui modifient les sites de liaison consensus pour les facteurs de transcription.

Plusieurs maladies cliniquement importantes y compris surtout le syndrome de DiGeorge (DGS), le syndrome vélo-cardio-facial (VCFS) sont associées au mutation BSS [6, 205-208]. Chez 7 patients atteints de BSS, des altérations sont également associées à des microdélétions sur le chromosome 22q11.2, qui comprend le gène GP1BB. En plus des caractéristiques cliniques de la BSS, ces patients présentent généralement des malformations cardiaques, des caractéristiques faciales dysmorphiques, une hypoplasie thymique, une insuffisance vélopharyngée, qui sont des caractéristiques distinctives du syndrome de DiGeorge. Cependant, chez deux de ces patients, la macrothrombocytopénie et la tendance hémorragique étaient les seules caractéristiques cliniques, suggérant que les microdélétions sur le chromosome 22q11.2 devraient être évaluées même chez les personnes atteintes de BSS sans caractéristiques du syndrome de DiGeorge [209]. [205]

c) GP9 :

Chez les patients présentant des anomalies du gène GP9, 28 mutations différentes ont été détectées. Dix-huit sont des substitutions d'acides aminés affectant le peptide signal, LRRNT, LRR, LRRCT ou la région cytoplasmique. Il y a aussi 2 délétions courtes, c.-4_7del qui supprime le premier résidu de méthionine, et c.305_313del, une altération dans le cadre de LRRCT. Quelques mutations non-sens ($N = 4$) et frameshift ($N = 3$) sont dues à des délétions ou des duplications de nucléotides. La seule variante située à l'extérieur du cadre de lecture ouvert est c.-90G> C, une substitution homozygote de signification incertaine en raison de l'absence d'études fonctionnelles [197].

L'hétérozygote composé a également été décrit chez les patients atteints de BSS. Elle était relativement fréquente car environ 1/5 des mutations décrites du BSS sont de cette forme [8]. Les anomalies génétiques observées chez les patients atteints de BSS affectent le site de liaison de von Willebrand sur GP Ib α , inhibent l'association entre GP Ib β et GPIX après la synthèse des protéines, ou affectent les modifications post-traductionnelles qui peuvent influencer la fonction du complexe. Dans très peu de cas, une mutation ponctuelle affecte principalement la fonction du récepteur comme certaines mutations décrites dans GP Ib α et GPIX [210].

2. Les Mutations A L'origine Des Variante-Type De BSS Et La Maladie Pseudo-Von Willebrand :

Les mutations faux-sens provoquant des variantes de BSS sont très instructives dans la définition des domaines structuraux et / ou des résidus critiques qui sont cruciaux dans la biosynthèse et la fonction du complexe GP Ib / IX / V. En particulier, des mutations dans le domaine de répétition riche en leucine conservé de GP Ib α sont souvent associées à des formes variantes dans lesquelles GP Ib α est exprimé sur la surface des plaquettes sous une forme dysfonctionnelle qui lie le vWF beaucoup moins efficacement qu'un récepteur normal. Plusieurs mutations qui ont abouti à BSS de type variant sont présentées à la figure 23. [211]

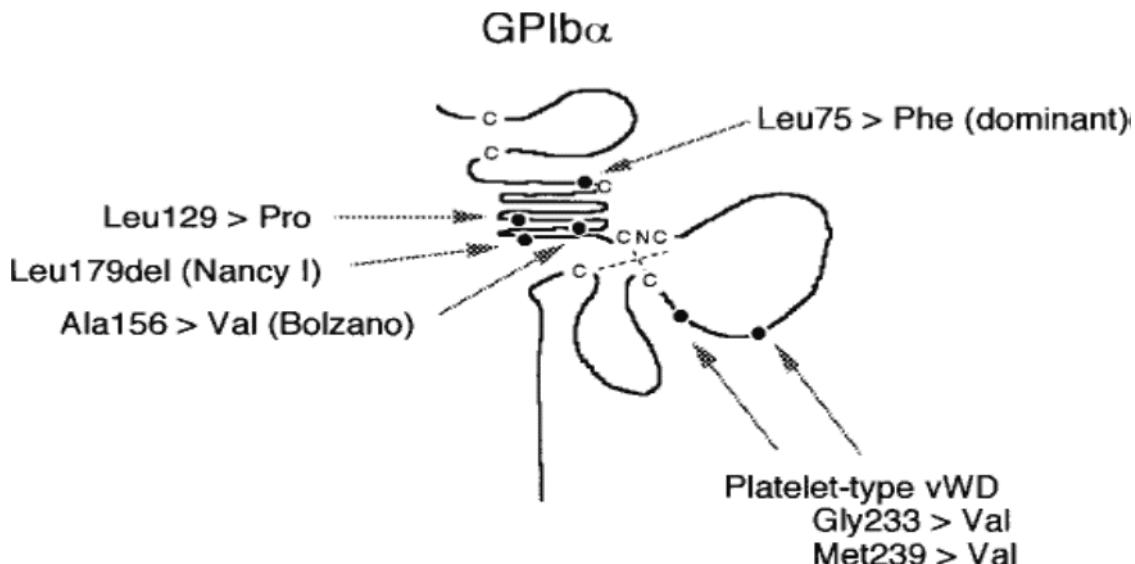


Figure 23 : Mutations faux-sens entraînant un complexe glycoprotéine (GP) Ib / IX / V dysfonctionnel. La région N-terminale de GPIbα avec les positions mutées identifiées dans le syndrome de Bernard-Soulier et la maladie de von Willebrand plaquettaire (vWD) sont indiquées par des flèches. [211]

Une forme variante autosomique dominante unique de BSS est associée à une substitution hétérozygote de la phénylalanine pour un résidu de leucine hautement conservé dans la première répétition riche en leucine de GPIb α (Leu57Phe) [10]. Une macrothrombocytopénie était présente et l'agglutination plaquettaire induite par la ristocétine était légèrement diminuée. Le mutant GPIb α a été exprimé sur les membranes plaquettaires ; Cependant, il est exceptionnellement sensible à la protéolyse.

Le variant de Bolzano est associé à une mutation faux-sens homozygote dans la sixième répétition riche en leucine de GPIb α (Ala156Val) [212, 213]. Cette mutation entraîne l'expression d'un complexe GPIb / IX / V dysfonctionnel à des niveaux normaux. La GP Ib α mutante manque les épitopes de plusieurs anticorps monoclonaux uniques et la capacité de lier le vWF; la liaison de la thrombine est normale. Les résultats suggèrent que les répétitions riches en leucine ont un rôle important dans la liaison du vWF, mais pas dans la liaison de la thrombine. En outre, la présence de plaquettes géantes suggère qu'une conformation appropriée maintenue par les répétitions riches en leucine est importante dans la liaison de la queue cytoplasmique de GPIb α au cytosquelette.

Dans la variante de Nancy I, une délétion de 3 bases a entraîné la perte de Leu179 dans une région hautement conservée de la septième répétition riche en leucine de GPIba [88, 214].

La maladie de type plaquette ou pseudo von Willebrand est également associée à une GPIba anormale. Ce trouble est caractérisé par un temps de saignement prolongé, une thrombocytopenie légère et une diminution des multimères de haut poids moléculaire du vWF, mais généralement les plaquettes sont de taille normale [215]. Les constatations cliniques et biologiques de ce trouble sont assez similaires à celles de la maladie de von Willebrand de type 2B [216], mais la maladie de von Willebrand plaquettaire résulte de l'hyperréactivité du GP Ib α en raison de mutations de gain-de-fonction dans la boucle de disulfure entre Cys209 et Cys248 (Gly233Val et Met239Val) [217-220]. Ces mutations permettent au vWF plasmatique de se lier spontanément aux plaquettes, avec élimination ultérieure des plus grandes formes de vWF de la circulation [211].

3. Les Mutations Fondatrices Du BSS (Founder Mutations) :

Le syndrome de Bernard Soulier a fait l'objet de plusieurs études dans des populations européennes, japonaises et nord-américaines. Les populations africaines et arabes n'ont pas été étudiées, sauf quelques exceptions.

Certaines mutations du BSS ont été décrites dans plusieurs familles de différentes nationalités ou dans une population donnée.

Dans la GP Ib α , Leu129Pro a été identifié dans deux familles afro-américaines [210], deux familles finlandaises [221], et deux autres familles afro-américaines [222]. La mutation faux-sens de Phe55Ser dans la GPIX a été révélée dans deux familles du sud de l'Iran [223].

En GP Ib β , la mutation Tyr88Cys a été retrouvée dans plusieurs familles japonaises [224], une délétion de 13 pb de la séquence codante du peptide signal conduisant à une terminaison prématurée retrouvée dans deux familles japonaises apparentées [225] et chez un patient d'Arabie Saoudite [226]. De même, la mutation Ala156Val a été identifiée dans plusieurs familles avec le phénotype BSS hétérozygote [11].

Récemment, Hadjkacem et al., [8] ont signalé la survenue de la mutation Ser23Stop dans GP Ib β dans trois familles tunisiennes non apparentées et ont suggéré que cette mutation est fondatrice dans la population tunisienne. Pour identifier les bases moléculaires de 12 familles italiennes ayant une forme de macrothrombocytopénie autosomique dominante, Savoia et al [11] ont utilisé une analyse de liaison, un dépistage de mutation et une cytométrie de flux. L'analyse de liaison dans deux grandes familles a localisé le gène candidat sur le chromosome 17p, précisément la GP Ib α . Dans six familles, ils ont révélé la présence d'une mutation faux-sens (Ala156Val) avec une réduction de l'expression de la glycoprotéine des plaquettes comme observée chez les patients BSS hétérozygotes. Les auteurs ont conclu que les patients initialement diagnostiqués comme ayant une macrothrombopénie autosomique dominante sont en réalité des BSS hétérozygotes [11].

La mutation Asn45Ser dans le gène GP IX a été décrite dans environ 10 familles non apparentées d'origines différentes : finnois, britannique, autrichien, suédois, belge et turc. Ce défaut de gène est considéré comme le défaut moléculaire le plus souvent identifié causant le BSS chez les Caucasiens. Koskela et al [221] ont suggéré que cette mutation semble être une ancienne mutation partagée par les populations d'Europe centrale et du Nord et ont proposé que le génotypage Asn45Ser soit utile pour un diagnostic différentiel. Fait intéressant, grâce à cette mutation, des médecins ayant mal diagnostiqué trois patients allemands non apparentés par une thrombocytopénie immune et ont corrigé le diagnostic après séquençage des trois gènes candidats pour le BSS et révélé la présence de la mutation Asn45Ser dans GPIX [227].

Le BSS est assez courant en Inde, où la prévalence des mariages consanguins est très élevée, bien qu'il y ait à peine quelques centres proposant un diagnostic génétique pour ces troubles hémorragiques rares. Une grande diversité génétique a été observée chez les patients indiens atteints de BSS [228].

Les porteurs hétérozygotes du syndrome de Bernard Soulier sont parfois identifiés comme des cas isolés de trouble plaquettaire / macrothrombocytopénie ou diagnostiqués avec un purpura thrombocytopénique idiopathique (PTI), ce qui explique pourquoi l'identification des mutations fondatrices est très importante dans le conseil génétique pour éviter les erreurs de diagnostic et les traitements inapproprié.

4. Les Conséquences Biologiques Des Mutations BSS Sur Le Complexe GP IB/IX/V :

Dans les plaquettes de patients atteints du BSS, le complexe GPIb-IX-V est habituellement indétectable ou exprimé à des niveaux très bas, comme indiqué dans la plus grande série de cas de 13 patients atteints de BSS [193]. Quel que soit le gène GP1BA, GP1BB ou GP9 touché par des mutations, il n'y a généralement pas d'assemblage du complexe dans le réticulum endoplasmique empêchant sa localisation au niveau de la membrane plaquettaire [229]. Liaison disulfure de GPIba et GPIb β dans le domaine extracellulaire proche de la membrane, ainsi que des interactions entre les domaines transmembranaires des sous-unités GP, sont nécessaires pour l'assemblage correct du complexe. En conséquence, des mutations non-sens et frameshift au-dessus du domaine transmembranaire de n'importe quelle GP sont susceptibles de générer des sous-unités instables qui ne s'assemblent pas efficacement avec les autres sous-unités. En accord avec cette hypothèse, certains allèles mutants, tels que p.Glu347 *, p.Trp359 *, et p.Ser486 * localisés dans le domaine ectopique de GPIba, sont détectables dans les lysats cellulaires mais pas sur la surface des plaquettes [198, 230, 231]. La seule forme tronquée connue, au moins à notre connaissance, pour s'exprimer à des niveaux normaux est p.Gln587 *, qui affecte le domaine cytoplasmique de GPIba [231]. Malgré cela, le mutant se lie faiblement au VWF, suggérant que l'interaction avec le cytosquelette d'actine est fondamentale pour la liaison correcte du VWF à son récepteur.

D'autres mutations conduisent à un ciblage anormal des protéines et à une progression à travers la voie sécrétoire. C'est le cas de p.Leu8_Leu10del, p.Leu16Pro, et p.Leu7Pro dans GP1BA, GP1BB, et GP9, respectivement, qui sont situés dans le peptide signal, et qui sont susceptibles d'entraîner une conformation anormale et, par conséquent, une translocation incorrecte des sous-unités dans le réticulum endoplasmique ou un clivage défectueux du peptide signal [232].

Enfin, une expression anormale peut également être due à des microdélétions, telles que celles sur le chromosome 22q11.2, ou à des mutations affectant la transcription, le traitement de l'ARN ou la traduction. Un exemple est g.-160C> G, une substitution nucléotidique qui

perturbe un site de liaison GATA-1 diminuant l'activité du promoteur GP1BB de 84% [203]. Une autre mutation, c.376A>G dans GP1BA, peut interférer avec la stabilité ou le traitement de l'ARNm puisque l'ARNm de GP1BA n'était pas détectable dans les mégacaryocytes d'un patient homozygote pour cette mutation [204]. Enfin, les mutations c.1A>C (GP1BA) et c.-4_7del (GP9) qui frappent le codon d'initiation et la séquence de Kozak perturbent l'initiation du processus de traduction des protéines [233].

De plus, le complexe est l'évaluation de la pathogénicité potentielle des mutations faux-sens, qui sont relativement fréquentes, représentant 56% des allèles BSS. Il est à noter qu'ils touchent la GPIb β et GPIX plus fréquemment que GPIba. Bien que toute explication de cette observation soit spéculative, l'hypothèse est que le repliement et la stabilité de GPIb β et GPIX sont plus sensibles à la substitution d'acides aminés que GPIba. Comparées aux mutations non-sens et au décalage du cadre de lecture, les effets des mutations faux-sens sont plus difficiles à prévoir à moins que les études fonctionnelles ne confirment leur rôle délétère. Comme la manipulation *in vitro* des cellules hématopoïétiques des patients est difficile, des cellules hétérologues ont été exploitées pour développer des modèles pour ces études. Des ovaires de hamster chinois (CHO) ou d'autres cellules ont été co-transférées avec les sous-unités GPIba, GPIb β et GPIX pour évaluer l'effet des mutations sur l'expression de surface des sous-unités mutantes. Confirmant des études sur les plaquettes des patients, l'expression d'une série de mutations, telles que p.Trp233Gly et p.Cys225Ser à la fois dans GPIba, p.Tyr113Cys dans GPIb β ou p.Leu7Pro dans GPIX, produisent des sous-unités instables [224, 232, 234]. Le mutant p.Asn89Thr (GPIb β) est plutôt stable mais retenu dans le réticulum endoplasmique, empêchant l'expression en surface du complexe [235]. Dans d'autres cas, par exemple avec p.Cys81Arg (GPIba), les glycoprotéines mutantes sont stables et exprimées en surface mais incapables de se lier au VWF [236]. Des défauts mixtes associant un traitement post-traductionnel anormal et une expression de surface moins efficace ont été observés pour la mutation p.Leu195del dans GPIba [79].

Cependant, les données de ces modèles cellulaires ne sont pas toujours cohérentes avec celles obtenues à partir des cellules des patients. C'est le cas, par exemple, de p.Leu145Pro (GPIba), dont l'expression transitoire était associée à l'inhibition de l'expression de surface du

récepteur malgré le fait que les plaquettes d'un individu homozygote pour la même mutation exprimaient 40% de la valeur normale [222]. Inversement, p.Cys147Ser (GPIb β) a été exprimé dans les cellules CHO mais significativement réduit sur la surface des plaquettes [237]. Pour ces raisons, seule une approche systématique combinant des données *in vitro* et *in vivo* permettra d'améliorer nos connaissances sur le rôle pathogénique des mutations en déterminant les effets sur l'expression et la fonction du complexe GPIb-IX-V.

En l'absence d'études fonctionnelles, les effets délétères des mutations faux-sens peuvent être prédits par des outils bio-informatiques utilisant des considérations physiques et des comparatives simples. Alternativement, il est possible de déterminer l'impact des changements d'acides aminés sur la structure tridimensionnelle. Par conséquent, en utilisant les structures cristallines de GPIb α (nom d'accès à la base de données de protéine : 1gwb), GPIb β (3rfe) et GPIX (3rez) (pour faire correspondre la numérotation PDB (Protein Data Bank) avec celle de la nomenclature de mutation, la première méthionine des protéines native réfère au résidu +1). À titre d'exemple les nouvelles mutations faux-sens dans les glycoprotéines ont été cartographiées sur la figure 24. La majorité des mutations signalées peuvent potentiellement provoquer une déstabilisation du repliement de la protéine et une dégradation conséquente des sous-unités dépliées [197].

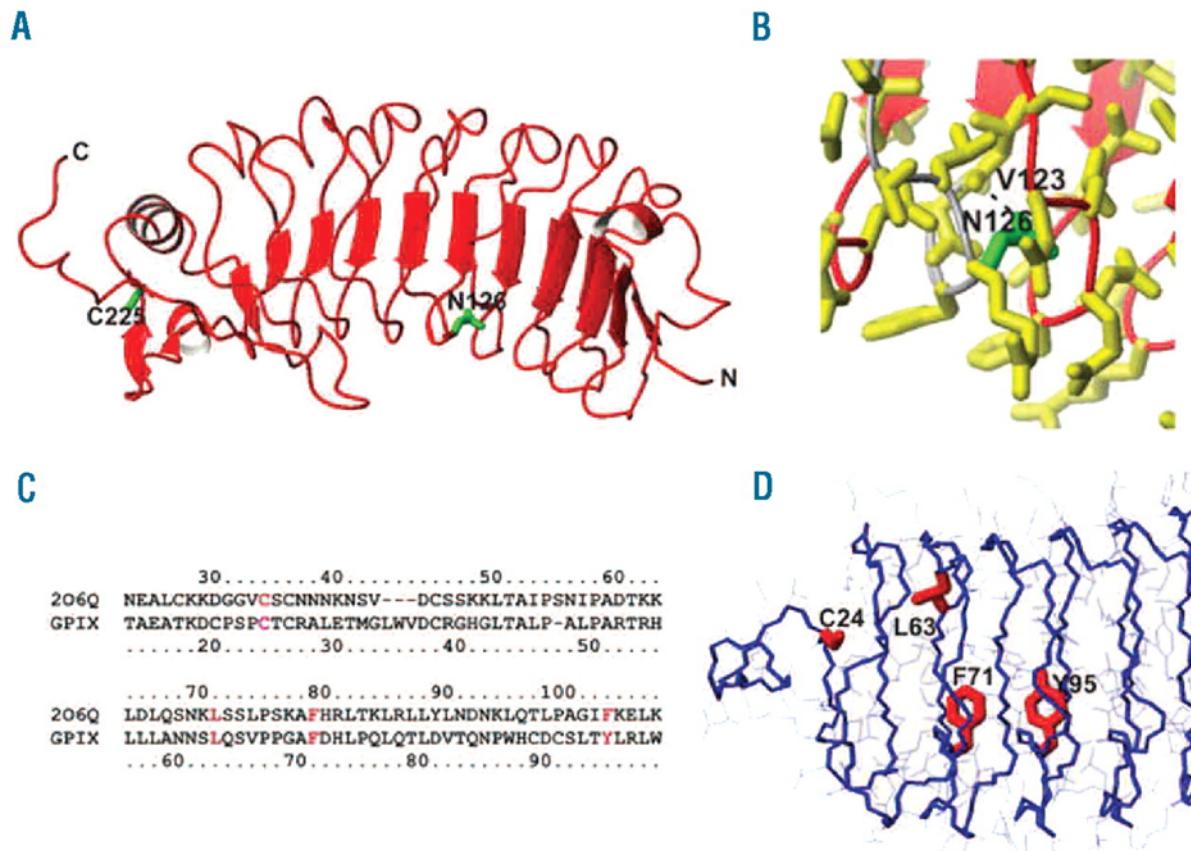


Figure 24 : Effet des mutations faux-sens sur le repliement des protéines.

(A, B) Représentation en ruban de GPIba (nom d'entrée 1GWB). (A) Les chaînes latérales de Asn126 et Cys225 sont indiquées, ainsi que les positions des extrémités N et C. (B) Gros plan de la région autour de Asn126 pour montrer l'environnement et son implication dans les liaisons hydrogène. Un effet de brouillard linéaire est appliqué pour donner une impression 3D. (C, D) Modélisation de GPIIX basée sur les coordonnées de 2O6Q. (C) Alignement de la région pertinente du modèle avec la séquence de GPIIX. Les positions qui portent les mutations observées sont marquées en rouge. (D) Cartographie des mutations dans la structure en utilisant un rayon de liaison plus épais pour les positions mutées [193].

F.LE PHENOTYPE DU BSS :

1. Les Manifestations Cliniques Du Syndrome : [3, 5, 8, 211, 238, 239]

Les plaquettes sanguines sont le support de l'hémostase primaire et de la coagulation. Les altérations fonctionnelles plaquettaires sont responsables de troubles hémorragiques surtout si elles perturbent les relations des plaquettes avec les autres partenaires du pool vasculaire et si elles sont combinées à une comorbidité hémorragipare avec un terrain particulièrement fragile.

Le BSS se caractérise cliniquement par un saignement prolongé de la peau, des plaquettes morphologiquement géantes et une thrombocytopénie. Dans la plupart des cas, les symptômes hémorragiques se manifestent rapidement après la naissance ou pendant la petite enfance. Les manifestations cliniques comprennent généralement des épisodes fréquents d'épistaxis, le purpura, des saignements gingivaux et cutanés et des hémorragies associées à un traumatisme. Les saignements affectent principalement les tissus cutanéomuqueux. Bien que ces caractéristiques soient typiques, les comparaisons des profils cliniques des patients atteints de BSS révèlent une variation considérable entre les individus. En l'absence d'autres investigations cliniques, les cas de BSS sont souvent mal diagnostiqués comme purpura thrombocytopénique idiopathique (PTI).



Figure 25: Les manifestations cliniques du syndrome de Bernard et Soulier

Sur le plan biologique, le phénotype du BSS est caractérisé par une numération plaquettaire qui peut aller de très faible ($< 30\,000 / \mu\text{L}$) à marginalement faible ou normale ($\sim 200\,000 / \mu\text{L}$) et chez certains patients, elle peut fluctuer considérablement sur plusieurs années. L'anomalie caractéristique dans BSS est un défaut isolé dans l'agglutination des plaquettes induite par la ristocétine. Contrairement au défaut de la maladie de von Willebrand, cette anomalie n'est pas corrigée par l'ajout de plasma normal. Les temps de saignement de la peau peuvent varier de légèrement prolongés (de 5 à 10 minutes) à plus de 20 minutes. Les sous-unités composantes du complexe GPIb-IX-V sont présentes, sauf dans de très rares exceptions, à des niveaux très bas ou indétectables par la cytométrie en flux ou par l'analyse SDS-gel (sodium dodecyl sulfate gel) et Western blot. Une exception intéressante est le variant Bolzano de BSS, impliquant une mutation A156V dans laquelle les plaquettes expriment des niveaux essentiellement normaux du complexe GP Ib-IX-V qui est, cependant, dysfonctionnel et ne peut pas lier VWF.

Cependant, la sévérité des symptômes peut progressivement s'aggraver ou disparaître tout au long de la puberté et de la vie adulte. Le plus souvent, les épisodes hémorragiques sévères sont associés à des traumatismes et à des interventions chirurgicales telle qu'une amygdalectomie, une appendicetomie, une splénectomie et bien d'autres procédures chirurgicales aussi des extractions dentaires, des menstruations et des grossesses, ou des accidents. Les ecchymoses sans traumatisme significatif sont relativement fréquentes, de même que les épisodes d'épistaxis spontanée et de saignement gingival ; rarement des saignements gastro-intestinal et hématurie. La ménorragie chez les femmes pré- ménopausées est de gravité variable et peut être contrôlée dans certains cas par des contraceptifs oraux. Un cas d'une fille de 14 ans était diagnostiqué de BSS associé à la tuberculose ; en plus du profil clinique typique une hémoptysie massive a été rapportée.

Les patients BSS hétérozygotes sont généralement asymptomatiques avec une fonction plaquettaire normale mais des plaquettes géantes. Toutefois des tendances hémorragiques légères à modérées ont été observées.

2. Le Syndrome De Bernard-Soulier Et La Grossesse :

Le nombre de patientes enceintes atteintes du syndrome de Bernard-Soulier est faible, de sorte que les conclusions solides sont difficiles à atteindre. La grossesse chez les patients atteints de BSS peut être relativement simple ou peut présenter des complications de gravité variable [240-242]. Il peut être totalement asymptomatique lors de(s) première(s) grossesse(s) et hémorragique pour les grossesses ultérieures [243]. Il peut se présenter avec des hémorragies antépartum ou post-partum, que ce soit précoce ou tardive [240]. Généralement, ce sont surtout la phase du travail et d'accouchement qui sont associés à un risque accru de saignement. Certaines patientes ne seront diagnostiquées que pendant la grossesse [242].

Le temps de saignement devrait toujours être pris, en plus d'autres test de saignement notamment chez une patiente enceinte présentant un saignement antepartum et / ou post-partum d'origine non diagnostiquée. L'accouchement vaginal doit être envisagé, sauf en cas d'une contre-indication obstétricale. Un suivi post-partum allant jusqu'à 6 semaines devrait être fait [242].

Différentes modalités de thérapie ont été utilisées pour prendre en charge les patients. Les transfusions de plaquettes ont été préconisées à la fois pour le traitement des saignements actifs ainsi que prophylactique avant l'accouchement [240, 244]. Cependant le bénéfice de l'utilisation thérapeutique ou prophylactique de la transfusion plaquettaire reste à démontrer. La desmopressine intraveineuse (DDAVP) a été essayée avec seulement un léger raccourcissement du temps de saignement, et cliniquement pas d'effet démontrable [240]. Un traitement antifibrinolytique utilisant l'acide tranexamique a également été recommandé et a été trouvé utile chez un patient présentant un saignement vaginal [240]. Pour le contrôle des hémorragies post-partum, l'utilisation d'agents ecboliques tels que l'ocytocine, le méthylergonovine et les prostaglandines est recommandée comme première ligne de prise en charge avec le massage utérin. L'échographie peut être utilisée pour rechercher des rémanents placentaires. L'inspection manuelle de la cavité utérine pour des lacérations ou des rémanents placentaires devrait être faite quand indiqué. Un seul patient a nécessité une hysterectomie post-partum comme procédure finale. L'accouchement multiple n'est pas rare [242].

3. La Relation Du Génotype Et La Sévérité De Saignement :

L'identification de la mutation chez ces patients peut aider à estimer le risque de développer des symptômes hémorragiques sévères. Par exemple, un patient avec la mutation GP9 c.182A>G (p.Asn61Ser) peut ne pas présenter une tendance hémorragique sévère contrairement aux patients avec la mutation faux-sens c.281A>G décrite dans le gène GP1BB . L'identification de la mutation peut également aider à initier la thérapie adéquate quand la chirurgie est envisagée ou un traumatisme se produit.

Savoia et ses collègues [193] ont abordé la question de savoir si le génotype BSS est en corrélation avec la sévérité du saignement. Les études chez la souris démontrent souvent que le phénotype peut varier en fonction du contexte génétique de la souris. Ainsi, d'autres différences génétiques qui affectent l'hémostase contribuent à la variabilité marquée de saignement chez les patients BSS. Ce qui est moins clair, c'est si le génotype BSS lui-même est également associé à la sévérité du phénotype hémorragique. La GPIba est impliquée dans la liaison de ligands multiples pertinents à différents aspects de l'hémostase, y compris le VWF, la thrombospondine, la P-sélectine, αMb2 (Mac-1), la thrombine, le facteur XI, le facteur XII et la kininogène et donc on pourrait prédire le potentiel de différences basées sur le degré d'expression de la GPIba par rapport à son absence complète, ou entre les faibles niveaux de la GPIba normale et la GPIba avec des mutations fonctionnelles dans le domaine N-terminal de liaison au ligand GPIba. Dans l'article de Savoia , il n'est pas possible d'évaluer une relation globale entre le génotype et le phénotype hémorragique, étant donné que la plupart des patients atteints de BSS dans leur étude sont un seul exemple de génotype spécifique. Il y a, cependant, 5 patients BSS dans leur étude de trois familles différentes qui impliquent la mutation de GPIX Cys8 (soit C8R ou C8W) et tous avaient un phénotype de saignement léger. En revanche, une étude antérieure portant sur le rapport génotype / phénotype dans une grande famille suisse a montré que 4 patients BSS homozygotes pour une mutation N45S dans la GPIX avaient un risque hémorragique variable [245].

Même si certains patients atteints de BSS présentent des symptômes mineurs dans la vie quotidienne, des saignements plus importants peuvent survenir après un traumatisme ou après une intervention chirurgicale. En effet les complications hémorragiques graves peuvent dépendre du type de la chirurgie ou de la gravité de l'accident. Par conséquent, les symptômes hémorragiques peuvent différer chez un groupe de patients porteurs de la même mutation [246].

En conclusion, la pénétrance d'une mutation chez des patients individuels repose sur le fond génétique de chaque patient individuel [246] et la réponse à cette question nécessite des études génétiques portées sur des effectifs plus importants de patients BSS qui partagent des mutations identiques.

G. DIAGNOSTIC CLINICO-BIOLOGIQUE :

Les thrombopénies constitutionnelles dont le syndrome de Bernard-Soulier fait partie, sont des entités rares et hétérogènes mais certainement sous-diagnostiquées car souvent étiquetées thrombopénies auto-immunes. Leur diagnostic précis est nécessaire car elles n'ont pas toutes le même pronostic.

1. Interrogatoire Et L'examen Somatique :

Dans un premier temps, il est important de réunir un faisceau d'arguments orientant vers l'origine constitutionnelle et le syndrome de Bernard-Soulier vers la fin, d'où la nécessité d'un interrogatoire et d'un examen clinique détaillés.

L'interrogatoire et l'examen somatique devront préciser :

- L'âge, les antécédents personnels et familiaux, médicaux et chirurgicaux, la notion de transfusion récente chez le patient ;
- Les éléments en faveur d'une thrombopénie constitutionnelle surtout les antécédents familiaux de thrombopénie et/ou de manifestations hémorragiques ;
- Les anomalies cliniques associées au phénotype BSS (décris dans la partie Clinique du BSS)
- L'absence d'autres anomalies cliniques, évoquant certaines thrombopénies constitutionnelles syndromiques, notamment : Le syndrome dysmorphique, fente vélopalatine, eczéma, anomalies osseuses, malformations ;
- Le mode d'apparition, la localisation et la nature et évolution clinique du syndrome hémorragique ;
- La prise récente de médicaments, l'introduction d'un nouveau traitement
- Les habitudes de vie, les voyages
- La prise d'alcool, de toxiques

Cependant les manifestations cliniques seules ne permettent pas le diagnostic du BSS car il était souvent diagnostiqué à tort comme un purpura thrombocytopénique idiopathique (PTI). L'analyse biologique est indispensable pour confirmer le diagnostic. [247, 248]

2. L'exploration Biologique :

Certaines explorations biologiques sont de réalisation facile et doivent être systématiquement réalisées chez l'enfant atteint comme chez les autres membres de la famille, pour orienter le diagnostic étiologique.

a) Les examens de première intention :

Les caractéristiques diagnostiques classiques de BSS sont un temps de saignement prolongé, une thrombocytopenie modérée à sévère et des plaquettes géantes.

(1) Numération plaquettaires :

C'est un examen de routine devant tout désordre hémorragique, Elle reflète l'équilibre entre la production au niveau de la moelle osseuse et la destruction périphérique. Le but étant de déterminer les paramètres plaquettaires : numération et volume moyen plaquettaires (VMP) et de mettre en évidence d'éventuelle thrombopénie après élimination des fausses thrombopénies.

Le taux physiologique des plaquettes est compris entre 150 à 400 G/L. La majorité des plaquettes a un volume compris entre 2 et 20 fl, définissant un Volume Moyen Plaquettaires (VMP) normal de 7 –12 fl.

Le prélèvement se fait de préférence à jeun, au repos (10 minutes en position allongée), par :

- un kit pour prélèvement capillaire
- ponction veineuse franche avec un garrot peu serré et laissé moins d'une minute sous anticoagulant EDTA. Le prélèvement veineux est aussitôt agité par retournement. Le délai de conservation à température ambiante (18 à 22°C) est de 2 à 4 heures au maximum.

Deux types de techniques peuvent être utilisées pour la numération plaquettaire :

- La technique manuelle à l'aide d'un hémocytomètre sous prélèvement capillaire : dite méthode de Brecher-Cronkite (méthode de référence). Le sang total est dilué au 1/100 avec une solution d'oxalate d'ammonium à 10 g/L pour hémolyser les globules rouges. Le nombre de plaquettes est ensuite déterminé à l'aide d'une cellule de comptage, hémocytomètre de Malassez et d'un microscope à contraste de phase. Il est impératif de compter la cellule deux fois. Les résultats sont exprimés par la moyenne des deux scores.
- La technique automatique dans le cadre d'un héogramme sous prélèvement EDTA : Les compteurs électroniques permettent une analyse multiparamétrique en un minimum de temps à partir d'un échantillon de sang total non dilué au préalable. Il s'agit, soit d'une mesure d'impédance, soit d'un comptage optique en illumination sur fond noir. Elle permet de calculer la numération, le volume plaquettaire moyen et fournit aussi l'histogramme de la distribution du volume plaquettaire (Figure 26). [249]

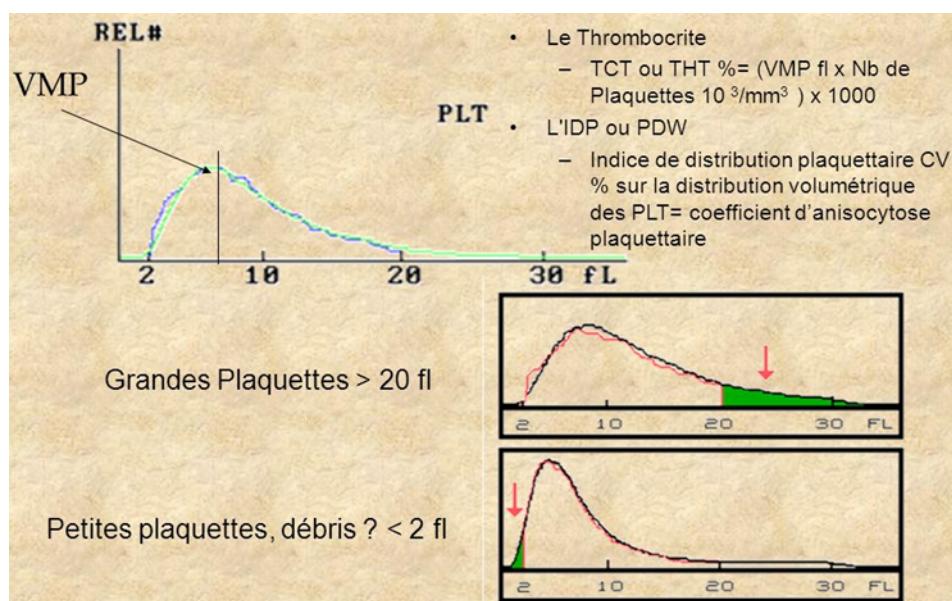


Figure 26 : Histogramme de la distribution du volume plaquettaire [250]

Dans le syndrome de Bernard-Soulier le nombre des plaquettes varie généralement de moins de 30 à $200 \times 10^3/\mu\text{L}$ [251]. Les thrombocytopénies sont alors modérée à sévère. De même, vue les plaquettes géantes caractéristiques des patients BSS, les systèmes automatisés de comptage des cellules sanguines dans lesquels les cellules sanguines se différencient par leur taille ne permettent pas de déterminer la numération plaquettaire précise et le volume plaquettaire moyen. À cet égard, c'est la méthode manuelle, qui est utilisée chez les patients suspectés d'avoir le BSS, pour la numération des plaquettes [211].

(2) Etude morphologique par coloration classique May-Grünwald-Giemsa (MGG) :

L'examen du frottis de sang périphérique est un élément déterminant lors de l'évaluation des patients suspects de BSS ; il est important de procéder à une évaluation morphologique soigneuse des plaquettes sur le frottis et de rechercher la présence des plaquettes géantes qui caractérisent le BSS (figure 27). Le frottis sanguin révélera de grandes plaquettes ; typiquement plus d'un tiers des plaquettes sont environ la moitié de la taille d'un globule rouge ($3,5 \mu\text{m}$), et certaines plaquettes sont aussi grandes ou plus grandes qu'un lymphocyte, et peuvent atteindre $10 \mu\text{m}$; tandis que les plaquettes normales sont de 2 à $3 \mu\text{m}$. [5, 8]

Le myélogramme montrera un nombre normal de mégacaryocytes sans anomalies morphologiques significatives [252].

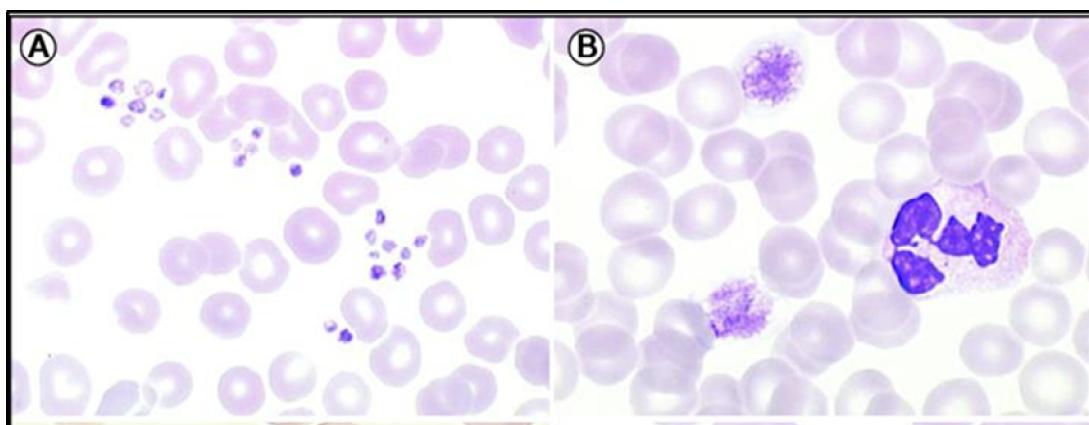


Figure 27 : A : Agrégats de plaquettes sur frottis sanguin (adulte sain). B : plaquettes géantes de la maladie de Bernard et Soulier [253]

(3) Temps de saignement (TS) :

Le temps de saignement (TS) est un test réalisé *in vivo*, explorant globalement l'hémostase primaire. C'est un examen précieux dans le diagnostic du BSS.

Plusieurs techniques ont été utilisées [254] :

- Technique de Duke
- Technique d'Ivy incision
- Technique d'Ivy incision trois points

La technique d'Ivy incision est considérée comme la technique de référence. Cette technique réalisée à l'avant-bras est bien standardisée. Chez l'adulte, une contre-pression de 40 mm de mercure est appliquée au bras, à l'aide d'un brassard à tension (cette pression est de 30 mm de mercure chez l'enfant de moins de 12 ans). Une désinfection par un antiseptique non alcoolique (éther) est pratiquée au préalable L'incision est horizontale (l'alcool provoque une vasodilatation), parallèlement au pli du coude, à l'aide d'un dispositif jetable, sur la face antérieure de l'avant-bras, en prenant soin de ne pas inciser un trajet veineux. Le chronomètre est déclenché à l'apparition de la première goutte de sang qui est recueillie par imbibition sur papier buvard sans essuyer la plaie toutes les 30 secondes. Le chronomètre est stoppé à l'arrêt du saignement. La valeur normale est de 4 à 8 minutes [255].

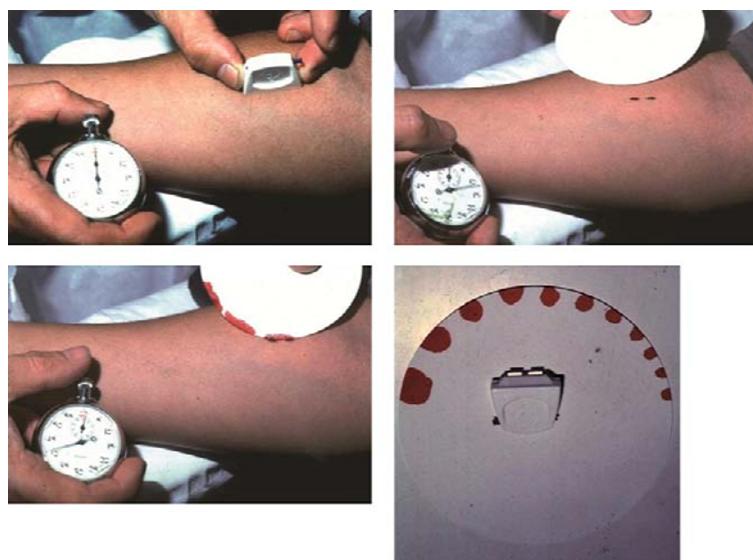


Figure 28 : La méthode d'Ivy incision [256]

Le BSS est caractérisé par un temps de saignement très allongé > 15 min, cet allongement est associé surtout à la thrombopénie [3].

Cependant, malgré sa relative simplicité, le temps de saignement est peu reproductible, invasif, insensible à de nombreux défauts plaquettaires bénins et prend du temps. En outre, le temps de saignement ne correspond pas à la tendance hémorragique, et un antécédent de saignement précis est un test de dépistage plus valable. En raison de ces limites, l'utilisation du temps de saignement a rapidement diminué au cours des dernières années. Il est remplacé par d'autres tests de la fonction plaquettaire moins invasifs [257-259].

b) Les examens de la seconde intention :

(1) Les épreuves fonctionnelles plaquettaires :

(a) Temps d'occlusion :

Le PFA 100® (Platelet Function Analyzer) réalisé sur un sang citraté, évalue le temps d'occlusion qui correspond au temps nécessaire à l'arrêt du flux à travers une membrane de collagène en présence d'agoniste plaquettaire (ADP ou épinephrine). Il explore essentiellement l'accrochage de la GP Ib plaquettaire au FVW.

Le PFA-100® n'est pas un test systématique dans le diagnostic du BSS, cependant il peut être utile pour identifier les troubles plaquettaires qualitatifs du BSS, mais avec une sensibilité variable, en fonction de la gravité du défaut. Pour un patient BSS, le temps d'occlusion au PFA-100® est aussi très allongé avec les deux cartouches [260].

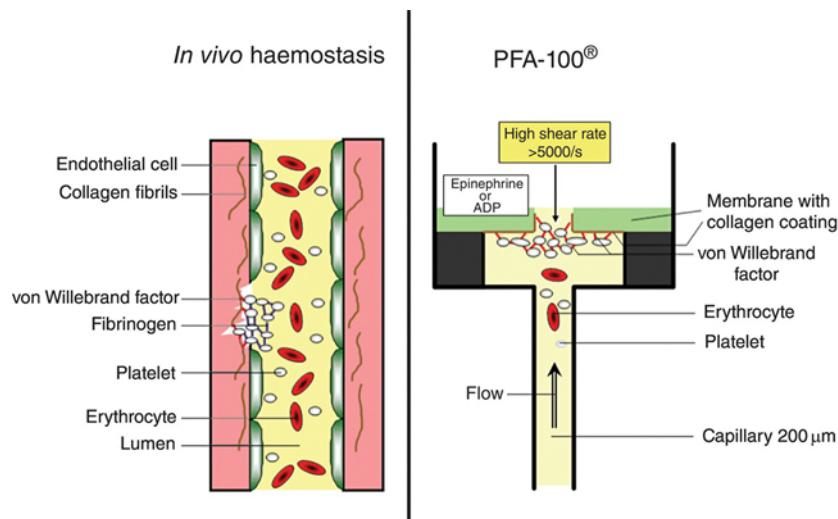


Figure 29 : Le principe du PFA-100, ainsi qu'un schéma pour l'agrégation plaquettaire in vivo

(b) Le test d'agrégation plaquettaire :

Le test d'agrégation plaquettaire est un élément indispensable du diagnostic, réalisé par un aggrégomètre sur un plasma riche en plaquettes (PRP), celles-ci, en quantité suffisante, sont capables d'agréger après activation par différents agonistes (ADP, Collagène, Acide arachidonique , Ristocétine , Thrombine). Il se fait le plus souvent par méthode photométrique.

Pour un patient BSS, L'étude fonctionnelle in vitro confirme l'absence d'agglutination en présence de ristocétine et de botrocétine, tandis que l'agrégation induite par le collagène, l'ADP, l'acide arachidonique est normale. Mais, l'agrégation à la thrombine est nulle.

Ce défaut d'agrégation ne peut être corrigé avec l'ajout de plasma normal, ce qui distingue le BSS de la maladie de von Willebrand. [3, 8, 261]

➤ Agrégation plaquettaire en présence de ristocétine :

Deux doses de ristocétine sont utilisées (0,5 et 1,2 mg/ml). La ristocétine induit une agglutination des plaquettes par fixation du vWF sur le complexe GPIb-IX plaquettaire. La faible concentration (0,5 mg/ml) n'induit pas d'agglutination d'un PRP normal [262].

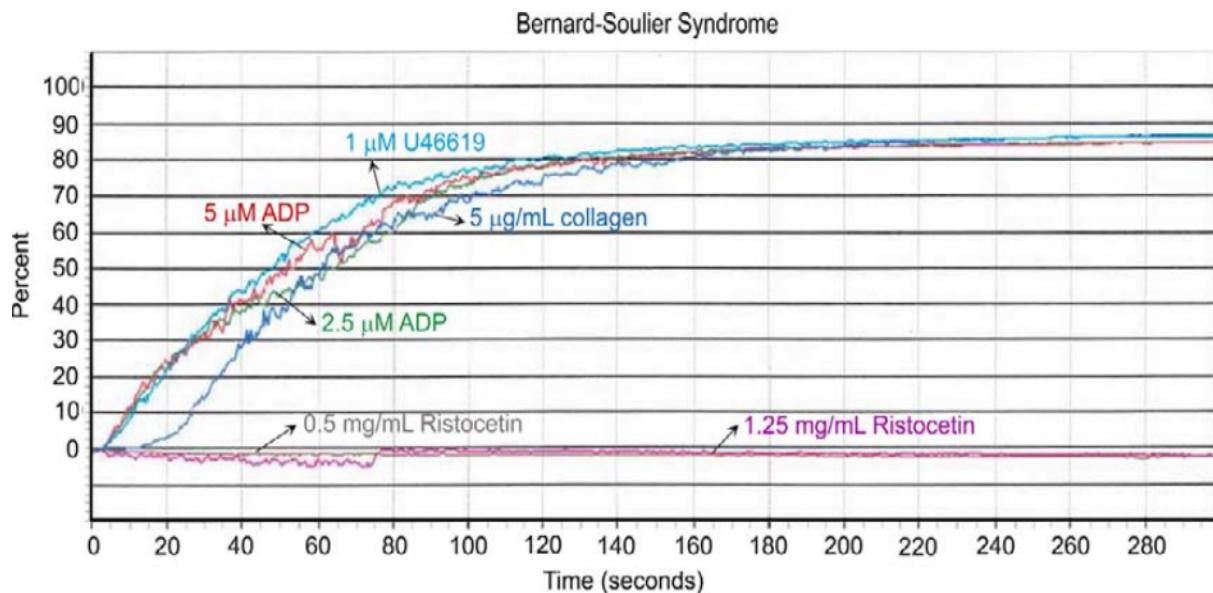


Figure 30 : Anomalies d'agrégation plaquettaire dues au syndrome de Bernard-Soulier .

Les tracés de la transmission de la lumière (colorés par agoniste) sont présentés pour le plasma riche en plaquettes provenant d'un enfant atteint du syndrome de Bernard-Soulier avec une macrothrombocytopénie et un déficit sévère en GPIb-IX-V. Il y a absence d'agrégation avec 1,25 mg / mL de ristocétine mais agrégation normale avec d'autres agonistes (résultats indiqués pour deux concentrations de ristocétine et d'ADP, 5 µg / mL de collagène et 1 µM d'analogique de thromboxane A2 U46619). [35]

(2) Test de confirmation :

Le diagnostic provisoire basé sur l'agrégométrie devrait être confirmé biochimiquement. Cela peut impliquer une évaluation de l'expression de la glycoprotéine de surface plaquettaire. Le déficit en récepteurs membranaires glycoprotéiques GP Ib-IX-V est démontré par la cytométrie en flux et/ou électrophorèse bidimensionnelle. La combinaison de ces deux techniques peut être suivie de l'immunotransfert (western blot) [3].

(a) La cytométrie en flux sur sang total :

Tous les patients atteints de BSS ont une expression diminuée ou absente du complexe GPIb-IX-V. Pour cette raison, le diagnostic est confirmé par la cytométrie de flux en utilisant des anticorps spécifiques reconnaissant une ou plusieurs protéines du complexe (Figure 32) [8, 263, 264]. La cytométrie de flux permet également une évaluation de la taille des plaquettes, et le double marquage de GPIb / IX / V et GPIIb / IIIa permet des niveaux

d'expression comparatifs. Le complexe GPIIb-IIIa, normalement exprimé sur la surface des plaquettes des sujets sains et des patients atteints de BSS, sert de témoin positif [8].

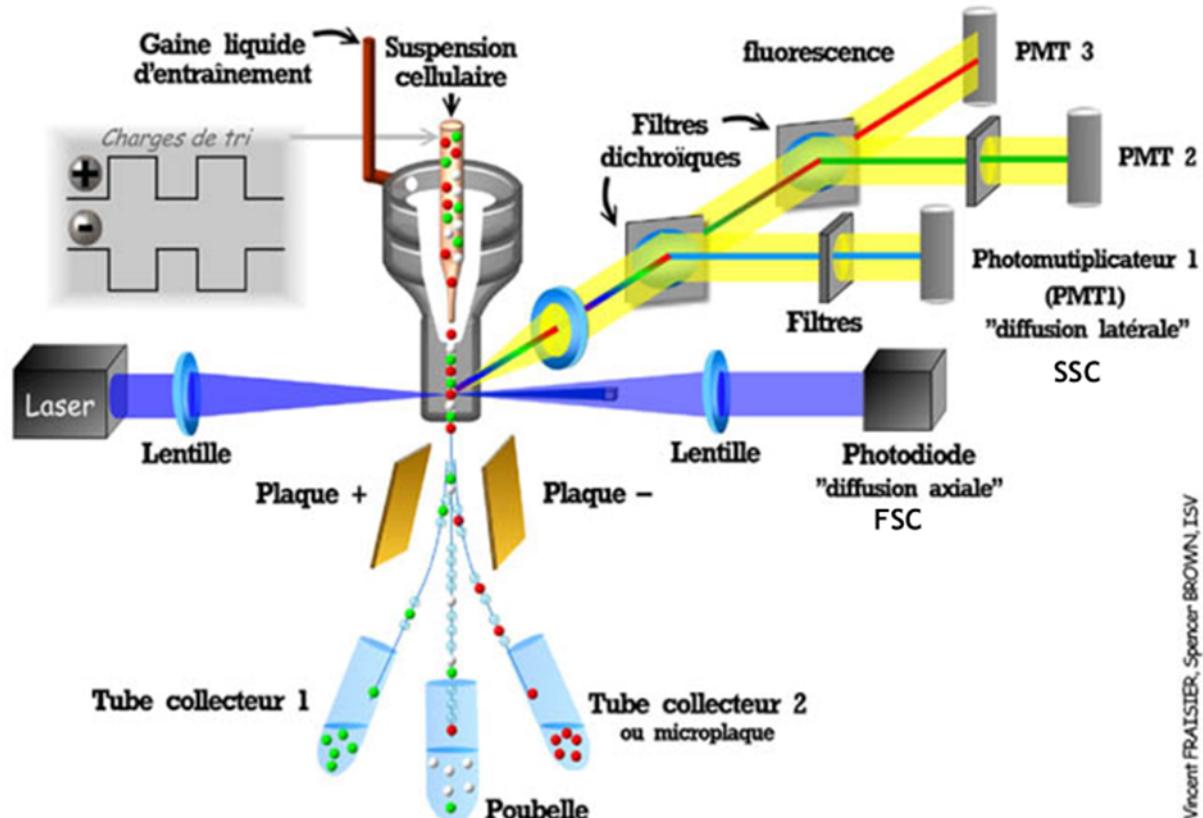
▪ **Le principe de la technique :**

La cytométrie de flux mesure rapidement les caractéristiques spécifiques d'un grand nombre de cellules individuelles. Ces cellules individuelles en suspension sont marquées par fluorescence, typiquement avec des anticorps monoclonaux conjugué par fluorescence. Dans le cytomètre en flux, les cellules en suspension traversent une cellule d'écoulement et, à une vitesse allant jusqu'à 20 000 cellules par seconde, à travers le faisceau focalisé d'un laser. Après que la lumière laser active le fluorophore à la longueur d'onde d'excitation, les détecteurs traitent les propriétés de fluorescence émise et de diffusion de la lumière de chaque cellule. L'intensité de la lumière émise est directement proportionnelle à la densité de l'antigène ou aux caractéristiques de la cellule mesurée [256]. (Figure 31)

Le cytomètre de flux comprend trois parties :

1. Un réseau fluidique constitué d'une veine liquide s'écoulant à vitesse constante qui entraîne et focalise un deuxième flux liquide contenant l'échantillon ;
2. Un banc optique avec une ou plusieurs sources lumineuses et ses détecteurs du type photodiode (pour la diffusion de la lumière) et des photomultiplicateurs et filtres optiques qui permettent de quantifier les diverses fluorescences émises par chaque objet,
3. Un microprocesseur qui convertit les signaux électriques en signaux numériques, coordonne les données, prépare les représentations graphiques et les analyses statistiques

Représentation schématique d'un cytomètre de flux



Vincent FRALSTER, Spencer BROWN, ISV

Figure 31 : Le principe fonctionnel d'un cytomètre de flux [265]

Toutefois, Cette technique pose encore des problèmes de méthodologie pas tous résolus à l'heure actuelle : choix des anticorps, interprétation des résultats en particulier pour le dépistage des hétérozygotes. Ses avantages sont d'être réalisables sur une quantité minime de prélèvement (avantage en pédiatrie), de travailler sur sang total, de compléter l'étude fonctionnelle par agrégométrie dont on sait qu'elle est limitée en cas de thrombopénie profonde ou non interprétable en sang total quand le taux de plaquettes est inférieur à 80 Giga/l [266]. Toutefois l'avantage majeur est que la cytométrie en flux sanguin permet l'analyse des plaquettes sans tenter la procédure techniquement difficile de séparer physiquement les plaquettes géantes du syndrome de Bernard-Soulier des autres composantes du sang [267].

La préparation des échantillons est une opération délicate. Les plaquettes, facilement activables, doivent être analysées par un personnel spécialisé dans un délai très bref après ponction. En effet les conditions particulières de préparation de l'échantillon doivent être respectées. Parmi les principaux facteurs susceptibles d'influencer l'interprétation des résultats, nous pouvons citer :

- Le choix de l'anticoagulant [EDTA, citrate de sodium, CTAD (citrate, théophylline, adénosine, dipyridamol), ACD (acide citrique, citrate, dextrose)]
- La nature de l'échantillon (sang total, plasma riche en plaquettes, plaquettes lavées, échantillon fixe avant marquage)
- La spécificité des anticorps utilisés (nature des clones, spécificité épitopique, anticorps monoclonaux, polyclonaux)
- Le protocole d'immunomarquage (immunofluorescence directe ou indirecte)
- Le type d'automate utilisé

Un calibrant adapté à l'analyse des glycoprotéines plaquettaires, issu de la méthode QIFI®, a récemment été développée. Composé de billes de latex recouverts de quantités parfaitement définies d'anticorps monoclonaux (AcMx), ce calibrant utilisé comme étalon interne, est traité parallèlement aux échantillons plaquettaires [266].

Comme la diffusion de la lumière (en particulier la diffusion de la lumière vers l'avant) est corrélée avec la taille des plaquettes, les grilles de diffusion de la lumière doivent être ajustées dans l'analyse cytométrique en flux des syndromes plaquettaires géants comme le syndrome de Bernard-Soulier. Cet ajustement peut entraîner un chevauchement de la diffusion de la lumière des plaquettes géantes avec des globules rouges et blancs. Il est donc essentiel d'inclure dans le test un anticorps monoclonal spécifique des plaquettes en tant qu'identifiant plaquettaire. Pour les plaquettes du syndrome de Bernard-Soulier, cet anticorps identificateur ne peut évidemment pas être GPIb-, GPIX-, ou GPV spécifique [267].

La cytométrie des patients BSS révèle une réduction dans l'expression du complexe GP Ib/IX/V notamment la GP Ib α ou une déficience totale de la GPIb α . D'autres antigènes plaquettaires, CD41 (GPIIb) et CD61 (GPIIIa), sont normaux [252]. (Figure 32)

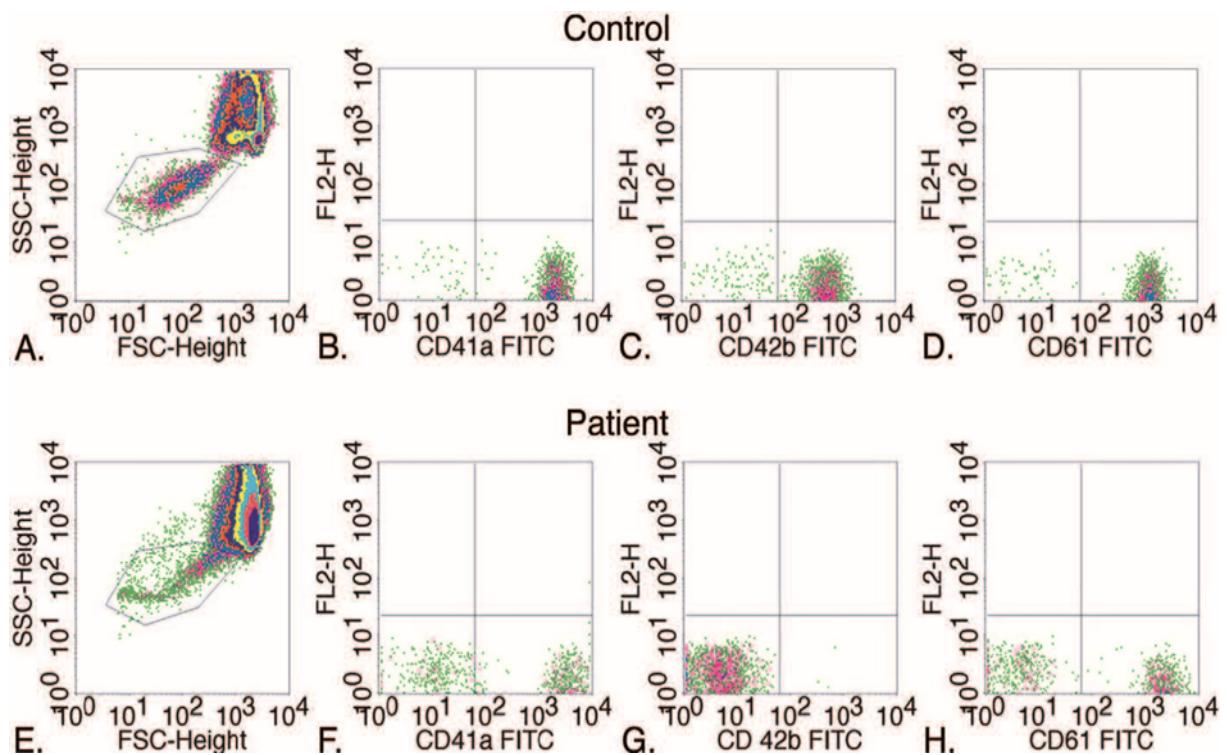


Figure 32 : L’analyse cytométrique en flux de l’expression des antigènes de surface plaquettaires CD41a (GPIIb), CD42b (GPIba) et CD61 (GPIIIa) permet de comparer des échantillons de sang périphérique d’un contrôle normal (A à D) et d’un patient atteint du syndrome de Bernard-Soulier (E à H). Le sang périphérique du contrôle normal montre la présence d’une population plaquettaire distincte (entourée) et d’une population érythrocytaire distincte (non entourée) (A). Il y a une expression adéquate des antigènes de surface CD41a (B), CD42b (C) et CD61 (D) sur les plaquettes. Le sang périphérique d’un patient atteint du syndrome de Bernard-Soulier montre une zone de fusion entre les plaquettes (entourée) et les érythrocytes (non entourée) (E) en raison de la présence de nombreuses plaquettes grandes et géantes, ainsi que d’une perte complète de l’expression de l’antigène CD42b sur les plaquettes du patient (G). Cependant, CD41a (F) et CD61 (H) montrent une expression adéquate de GPIIb et GPIIIa sur les plaquettes du patient. [252]

Des variations dans l’expression de surface des glycoprotéines plaquettaires sont largement décrites dans la littérature. Ces variations, reflétées par les moyennes de fluorescence, sont des résultats semi-quantitatifs qui ne peuvent être considérés que comme des données relatives, propres à chaque laboratoire.

L'expression des résultats est importante : en transformant les unités arbitraires, exprimées en intensité de fluorescence, en unités absolues, correspondant à un nombre de glycoprotéines par cellule, la quantimétrie permet de standardiser l'étude des plaquettes ; certains ont proposé de rendre un résultat sous forme de rapport de fluorescence entre la GPIb et GPIIb ou IIIa, ce qui faciliterait le dépistage des hétérozygotes et éliminerait les faux positifs liés à l'analyse de fluorescence d'un seul marqueur de la taille de la cellule. (Figure 33,34)

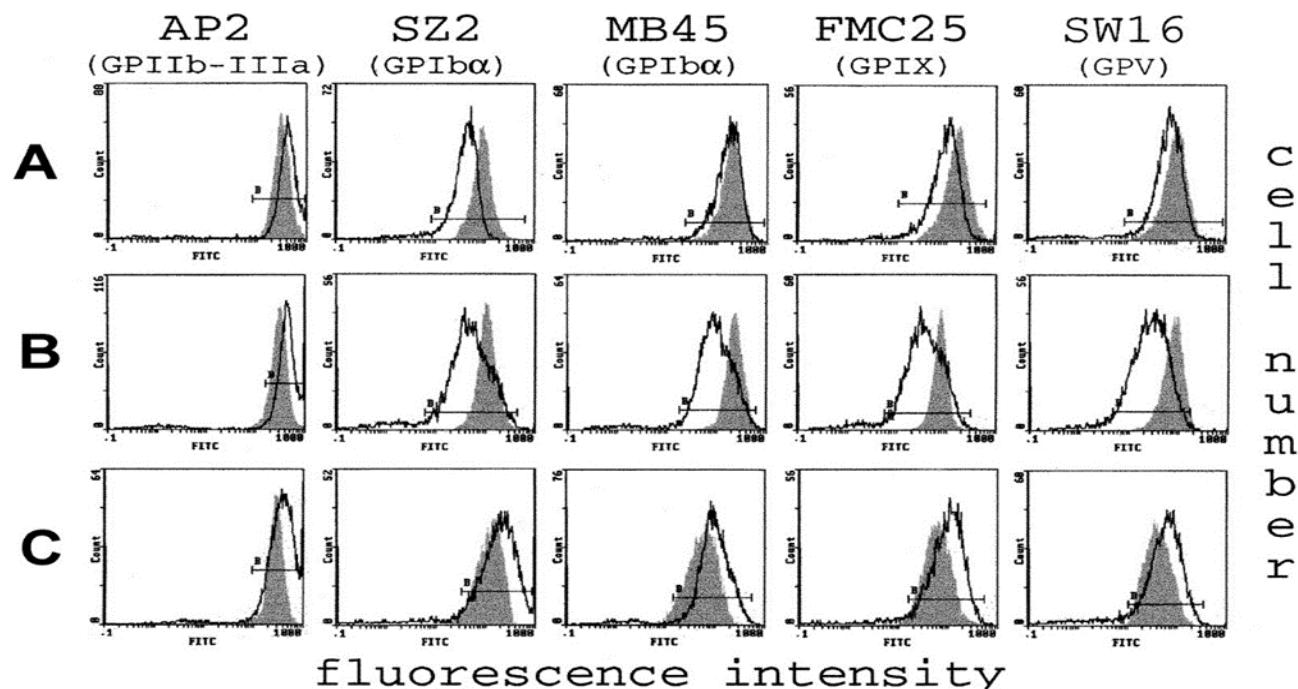


Figure 33 : Tracés de la cytométrie en flux avec des Ac. monoclonaux contre GPIIb / IIIa, GPIba (SZ2 et MB45, l'Ac monoclonal conformation-dépendant et indépendant, respectivement), GPIX et GPV de 3 patients. Chacun représentatif d'un groupe distinct. Au niveau du génotype, le patient A porte la mutation de Bolzano, alors que les patients B et C ont d'autres mutations. Chez chaque patient (courbe blanche), l'expression de GPIIb / IIIa sur la surface des plaquettes a été augmentée par rapport à celle du témoin sain (courbe grise), comme le montre le déplacement des courbes vers la droite. En revanche, les composants individuels du complexe GPIb / IX / V ont été diversement réduits chez les patients A et B. Ces patients ont un profil de GP compatible avec un phénotype BSS hétérozygote. La fluorescence différente obtenue avec les Ac. monoclonaux SZ2 et MB45 chez le patient de Bolzano est particulièrement intéressante, suggérant la présence d'une protéine GP Iba modifiée de manière conformationnelle. Le patient C montre une nette augmentation de tous les GP en raison du plus grand volume de plaquettes et représente ainsi le "vrai" patient atteint de thrombocytopénie. [11]

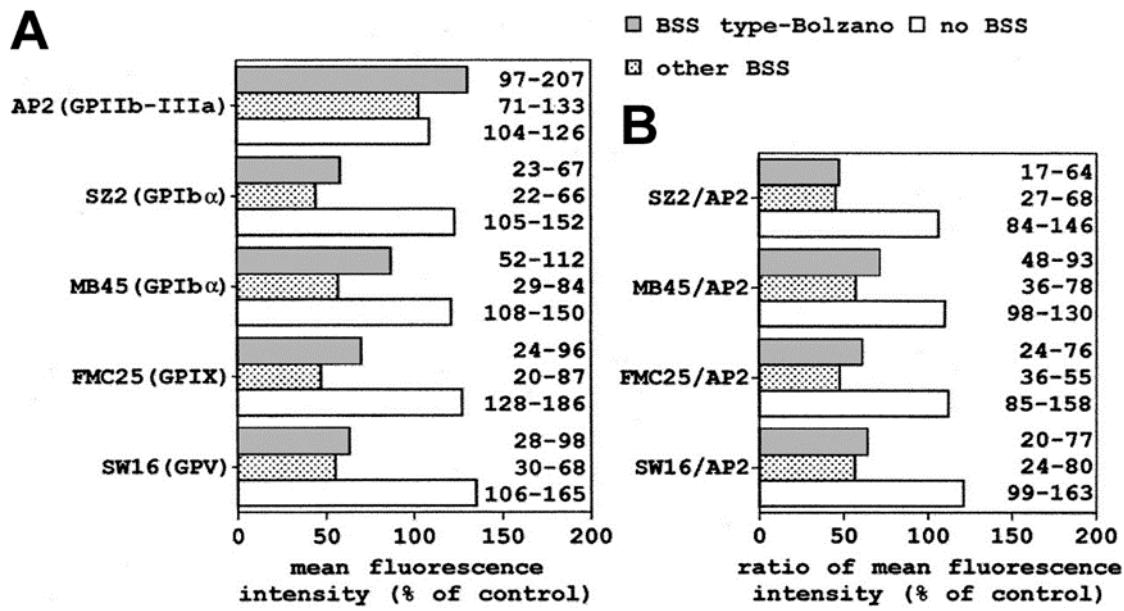


Figure 34 : Moyenne des résultats de cytométrie en flux des GP de la membrane plaquettaire chez les patients de chaque groupe (voir la légende de la figure précédente). (A) L'intensité de fluorescence moyenne (unités arbitraires) obtenue avec mAbs contre GPIIb / IIIa, GPIba, GPIX, et GPV a été normalisée à la moyenne des plaquettes de contrôle. (B) Les valeurs moyennes pour les composants individuels du complexe GPIb / IX / V ont été normalisées à celles de GPIIb / IIIa et exprimées en pourcentage de plaquettes témoins. Les nombres à droite des histogrammes se réfèrent à la plage de valeurs. [11]

(b) L'électrophorèse sur gel et Western Blot (technique des immunoempreintes) :

Il est possible de quantifier les glycoprotéines membranaires de surface mais aussi les constituants intra plaquettaires (granulaires ou non) par électrophorèse en gel de polyacrylamide (SDS-PAGE) et/ou immunoempreinte.

Une déficience en glycoprotéine membranaire Ib a été démontrée par électrophorèse sur gel de dodécylsulfate de sodium-polyacrylamide avec ou sans marquage de surface des plaquettes et a été confirmée dans plusieurs études supplémentaires incluant l'immunoélectrophorèse croisée. La glycocalicine, une glycoprotéine plaquettaire facilement solubilisée dérivée de la glycoprotéine Ib, s'est également révélée diminuée dans le syndrome de Bernard-Soulier [189].

Les études par Western Blot permettent de mettre en évidence les formes tronquées de protéines spécifiques.

c) Test supplémentaire :

(1) Biologie moléculaire :

Enfin, l'établissement d'un génotype anormal par des études moléculaires peut permettre une définition précise de l'anomalie causant le défaut plaquettaire, et déterminer les mutations en cause.

La biologie moléculaire utilise deux techniques : la polymerisation chain reaction (PCR) et la single strand conformation polymorphism (SSCP) couplées au séquençage des produits d'amplification. La PCR est basée sur l'utilisation d'une enzyme thermorésistante, l'ADN polymérase qui recopie en de nombreux exemplaires l'ADN cible à l'aide de deux amores complémentaires respectivement des brins sens et anti-sens. Le processus d'amplification est exponentiel. Chaque cycle aboutit à la formation de deux copies par brin. La SSCP fait appel à la migration des deux brins simples d'un fragment d'ADN, en général, préalablement amplifié dans un gel d'acrylamide non dénaturant. Les brins sont rendus visibles par marquage radioactif ou sont visualisés par une coloration du gel à l'argent. Il s'agit donc d'une méthode assez simple de dépistage des mutations ponctuelles. [268]

La figure 35 présente un algorithme qui peut être utilisé comme guide pour l'exploration rationnelle de la base moléculaire de BSS.

Après l'identification d'un patient présentant les caractéristiques cliniques et biologique primaire de la BSS, il est important de prendre un historique médical et des antécédents familiaux aussi complets que possible. L'histoire de la consanguinité chez les parents est particulièrement importante. Il est également vital de collecter le sang d'autant de parents que possible, afin de pouvoir identifier le gène affecté et vérifier le mode de transmission [3].

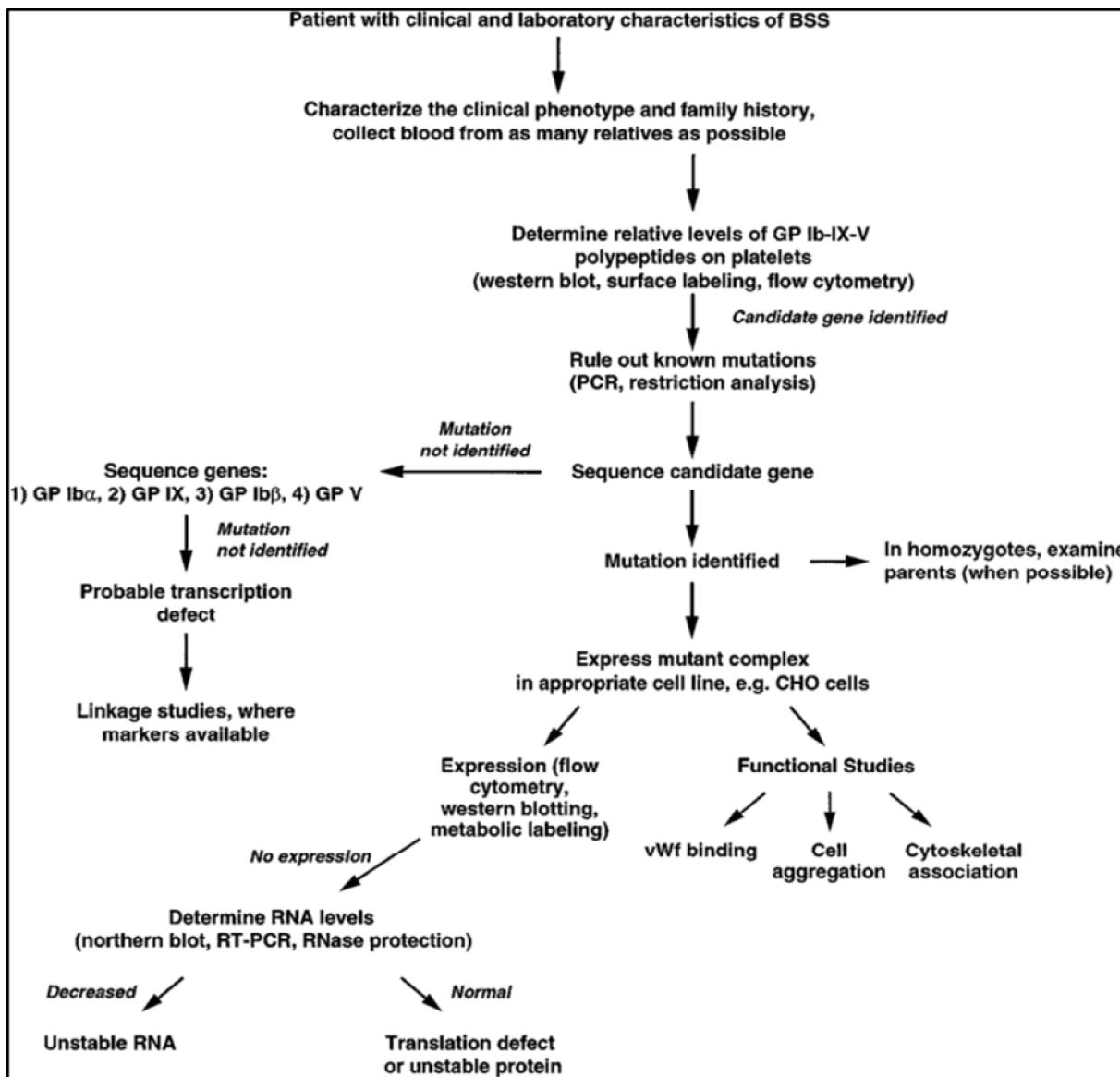


Figure 35 : Un algorithme pour l'exploration moléculaire d'un patient suspect BSS

3. Diagnostic Anténatal :

L'exploration d'une thrombopénie prolongée est une situation classique en pédiatrie. Le diagnostic anténatal est possible [268] soit par dosage de la GPIb à la surface des plaquettes foetales dès la 16e semaine d'aménorrhée, par cytométrie en flux, soit par biologie moléculaire après ponction trophoblastique [18]. Cependant, l'échantillonnage du sang de cordon ou des villosités choriales comporte un risque élevé de saignement et d'avortement prématuré [5].

H. LE DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL :

Ces tests de laboratoire spécialisés sont essentiels pour éviter la confusion entre les BSS et d'autres troubles plaquettaires. Le diagnostic différentiel inclus le plus souvent l'anomalie de May-Hegglin et les autres syndromes de thrombocytopénie liés à MYH9 (syndrome de Fecthtner, syndrome de Sebastian et syndrome d'Epstein), caractérisés par des plaquettes géantes, un caractère héréditaire autosomique dominant, et des mutations du gène MYH9 sur le chromosome 22q12-13, qui est le gène codant pour la chaîne lourde de la myosine non musculaire IIA (NMMHC-IIA) [251]. Et bien aussi le Purpura thrombopénique idiopathique, le syndrome des plaquettes grises et la maladie de von Willebrand.

1. L'anomalie De May-Hegglin :

C'est le trouble héréditaire des plaquettes géantes le plus répandu. Ces patients présentent souvent d'autres signes cliniques, y compris une néphrite, une paraplégie spastique familiale et un déficit en hormone de croissance hypophysaire [261]. Les tests d'agrégation plaquettaire in vitro montrent une réponse normale à l'adénosine diphosphate, au collagène et à l'épinéphrine et la ristocétine. Cependant, une réponse altérée à l'épinéphrine a été décrite [269]. L'évaluation du frottis périphérique montre de grandes plaquettes et des corps de Dohle, une inclusion en forme de fuseau bleu, dans le cytoplasme des neutrophiles [261].

2. Le Syndrome Des Plaquettes Grises :

Est un trouble plaquettaire géant extrêmement rare qui semble avoir un mode de transmission autosomique dominant ainsi que certains cas apparemment sporadiques. Les patients ont tendance à présenter tôt une épistaxis, une ecchymose et d'autres symptômes hémorragiques. La thrombocytopénie est fréquente. Cependant, le temps de saignement est prolongé même chez les patients présentant un nombre de plaquettes normal, suggérant un trouble plaquettaire qualitatif [261]. L'agrégométrie plaquettaire montre une réponse réduite au collagène et à la thrombine, mais des **réponses normales à l'adénosine diphosphate et à l'acide arachidonique**. La ristocétine peut avoir une réponse normale ou réduite, mais non absente [263]. Le frottis sanguin périphérique révèle de grandes plaquettes agranulaires qui apparaissent gris-bleu sur la coloration de Wright-Giemsa. L'échantillon de biopsie de moelle osseuse montre habituellement des mégacaryocytes normaux et une fibrose de la réticuline.

3. La Maladie De Von Willebrand :

Les patients atteints de la maladie de von Willebrand, le trouble hémorragique héréditaire le plus courant, peuvent présenter des symptômes semblables à ceux du syndrome de Bernard-soulier tels que des saignements cutanéo-muqueux, une épistaxis et une ecchymose. Cependant, la maladie de von Willebrand n'est généralement pas associée à une thrombocytopénie ou à des résultats significatifs de frottis périphérique. Les tests d'agrégation plaquettaire montrent un défaut d'agrégation en présence de ristocétine, à l'instar du BSS. Cependant, un test d'activité du cofacteur de la ristocétine, utilisant le plasma du patient et des plaquettes fraîchement lavées pour mesurer l'activité du facteur von Willebrand dans le plasma, sera normal chez les patients atteints de BSS et réduit chez les patients atteints de la maladie de von Willebrand [263].

4. Purpura Thrombopénique Immunologique (PTI) :

Les patients atteints de BSS reçoivent souvent un diagnostic de purpura thrombopénique immunologique, une thrombocytopénie à médiation immunitaire causée par des anticorps antiplaquettaires entraînant une destruction accélérée des plaquettes [263]. L'évaluation du frottis du sang périphérique montrera une diminution des plaquettes, et l'évaluation de la moelle osseuse montrera un nombre normal ou accru de mégacaryocytes. Le diagnostic de purpura thrombocytopénique immunitaire nécessite l'exclusion d'autres causes de thrombocytopénie. Les causes possibles du PTI comprennent les infections, les maladies auto-immunes, les maladies lymphoprolifératifs et certains médicaments. Le purpura thrombopénique immunologique peut être séparé en deux types PTI d'enfants et des adultes. Le purpura thrombocytopénique immunitaire INFANTILE survient habituellement de façon aiguë, se développe souvent après une infection virale ou une vaccination et souvent spontanément guéri quelques semaines à quelques mois, tandis que le type adulte est généralement une maladie chronique à début insidieux. La guérison est rarement spontanément [270].

I. LE SYNDROME DE BERNARD-SOULIER ACQUIS :

Le syndrome de Bernard Soulier acquis a été rarement rapporté dans la littérature. Cette forme acquise du BSS se caractérise, comme la forme constitutionnelle, par une absence d'adhésion des plaquettes au sous-endothélium vasculaire due à un déficit en récepteurs membranaires glycoprotéiques (GP) Ib-IX-V. Les plaquettes sont de grand volume (12 à 15fl), parfois géantes et en nombre légèrement diminué. Le déficit en récepteurs membranaires glycoprotéiques (GP) Ib-IX-V est démontré sur électrophorèse bidimensionnelle et/ou par cytométrie en flux. L'étude fonctionnelle *in vitro* confirme l'absence d'agglutination plaquettaire en présence de ristocétine. Cette thrombopathie, à la base constitutionnelle et congénitale, peut être acquise par la présence d'anticorps anti-facteur GP Ib-IX-V [271].

Cette anomalie de BSS peut être aussi, mais rarement, associée à une thrombocytopénie immune lorsque l'anticorps incriminé interfère avec la liaison du vWF au complexe GP Ib-IX-V. Dans cette situation, le risque de saignement est beaucoup plus important que ce qui est habituellement observé dans la thrombocytopénie immune, car le défaut hémostatique résultant de la faible numération plaquettaire est aggravé par le grave défaut adhésif des plaquettes qui restent en circulation [3].

L'induction de la dysfonction GpIb-V-IX par un peptide bloquant la liaison vWF-GPIb en tant que thérapie antithrombotique dans les maladies cardiovasculaires a été étudiée chez un modèle animal [272], bien que ces thérapies ne soient pas encore utilisées en clinique [273].

J. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE :

Les approches thérapeutiques de la prise en charge des patients atteints de BSS impliquent à la fois des mesures préventives générales et un traitement spécifique curatif au cours des épisodes hémorragiques ou des interventions chirurgicales et invasives prévues pour rétablir une hémostase suffisante.

1. Mesures Préventives

Ces mesures consistent à éviter tout comportement majorant le risque hémorragique comme la pratique de sports de contact, la manipulation d'objets contondants, les injections intramusculaires et tout traitement interférant avec les fonctions plaquettaires notamment les anti-agrégants plaquettaires et les anti-inflammatoires. La prévention des saignements gingivaux repose sur un suivi dentaire régulier et une bonne hygiène buccale. Les filles et les membres de la famille devraient être guidés sur ce qu'il faut faire lorsqu'une ménarche accompagnée d'une hémorragie excessive est imminente. La contraception hormonale peut diminuer les ménorragies chez les femmes avec ce trouble plaquettaire. Les familles dont les membres sont atteints de BSS devraient être conseillées sur la possibilité d'un diagnostic prénatal lorsque le génotype du cas index est connu.

Les patients doivent être vaccinés contre l'hépatite B. Une carence en fer peut résulter d'un saignement gingival chronique ou d'une ménorragie ; en effet une supplémentation en fer peut s'imposer et le taux d'hémoglobine doit être maintenu supérieur à 10 G/dL [274].

La gestion de manifestations hémorragiques superficielles, et notamment en cas d'épistaxis, repose, en premier lieu, sur des mesures locales par compression directe à l'aide d'une compresse voire une compresse hémostatique en cas d'échec [266]. L'anesthésie générale a été efficace chez un patient atteint de BSS, bien que les anesthésiques tels que l'halothane ou la dibucaïne qui compromettent la réactivité plaquettaire doivent être évités [275].

L'efficacité de ces mesures nécessite, en effet, une véritable éducation du patient, de son entourage et du personnel médical soignant.

2. Traitement Spécifique A Visé Curatif :

a) Transfusion de plaquettes : [252, 262, 266]

La transfusion plaquettaire et / ou sanguine restent la meilleure mesure thérapeutique pour le saignement incontrôlé et la prophylaxie pour contrôler le saignement pendant la chirurgie chez les patient BSS. Elle est indiquée en cas d'hémorragie sévère, en per-partum pour les césariennes programmées et dans les chirurgies à haut risque hémorragique.

Les avantages de recevoir les transfusions doivent être mis en balance avec les risques d'exposition. L'exposition répétée aux produits sanguins soulève des inquiétudes quant à l'allo-immunisation et à la réfraction des plaquettes. Le risque d'allo-immunisation est encore plus élevé chez les sujets BSS homozygote avec absence du complexe GPIb/IX/V parce qu'ils reconnaissent ces protéines comme étrangères sur les plaquettes transfusées. Les patients transfusés peuvent développer des isoanticorps dirigés contre les GP absentes, ce qui ensuite limite les capacités transfusionnelles donnant recours parfois à des échanges plasmatiques ou idéalement à des séances d'immuno-adsorption [93]. Ainsi, les concentrés de plaquettes déleucocytés issus d'un seul donneur sont utilisés permettant la prévention de l'allo-immunisation anti-HLA. Bien que certains auteurs aient suggéré que les patients devraient recevoir des plaquettes provenant de donneurs compatibles avec l'antigène leucocytaire humain afin d'éviter l'allo-immunisation, cette stratégie n'est actuellement pas largement acceptée.

Les risques supplémentaires de cette thérapie de sang incluent des réactions allergiques et transmission des agents infectieux.

Deux types de concentrés plaquettaires sont utilisés :

- Le concentré de plaquettes standard (CPS), obtenu par centrifugation d'un prélèvement de sang total. Son contenu en plaquettes est faible (0.5×10^{11} plaquettes); pour obtenir une dose thérapeutique, il faut pooler plusieurs unités, issues d'autant de donneurs, ceci augmentant le risque d'immunisation HLA et de transmission d'agents infectieux.

- Le concentré de plaquettes d'aphérèse (CPA), obtenu par aphérèse à l'aide d'un séparateur unique de cellules à partir du sang d'un donneur unique. Le contenu en plaquettes varie de $2 \text{ à } 6 \times 10^{11}$, il est dans ce cas suffisant pour obtenir une dose thérapeutique. L'utilisation du CPA est largement préférée au CPS pour son meilleur rendement et sa meilleure sécurité transfusionnelle.

Les propriétés hémostatiques et la survie *in vivo* des plaquettes sont d'autant plus grandes que leur utilisation s'effectue précocement au détour de leur préparation. Conservées dans les conditions précises de pH, à température comprise entre +20°C et +24°C, sous agitation lente et continue, elles peuvent être utilisées jusqu'à cinq jours à compter de la fin du prélèvement. La conservation à 4°C est à proscrire. Les transfusions de plaquettes après la chirurgie doivent être poursuivies jusqu'à ce que la cicatrisation des plaies soit réalisée [276] et pendant au moins 2 jours après la fin des épisodes hémorragiques graves. La surveillance de la thérapie peut être réalisée par des tests d'agrégation plaquettaire et par le test PFA-100 [277].

3. Traitements Adjuvants :

a) Antifibrinolytiques :

L'acide aminocaproïc ou l'acide tranexamique administré seul peut être très utile pour stopper ou diminuer l'hémorragie chez les patients BSS lors d'épistaxis, de saignement gingival ou de ménorragie. Ces agents sont également utiles pour la prévention du saignement après des interventions chirurgicales mineures, et peuvent être utilisés comme adjuvants d'autres modalités de traitement telles que le rFVIIa, la desmopressine et la transfusion plaquettaire.

Les patients doivent être guidés pour commencer un traitement oral avec un agent antifibrinolytique chaque fois qu'un saignement gênant se produit et ensuite consulter un médecin si nécessaire. Les deux agents peuvent être administrés par voie intraveineuse ou par voie orale [278, 279].

Pour l'utilisation orale de l'acide aminocaproïc , une dose de 60-80 mg/Kg 3-4 fois par jour est donnée [274].

Pour l'acide tranexamique (Exacyl®, Spotof®), La posologie d'Exacyl est de 2 à 4 g par 24 heures à répartir en 2 à 3 prises (soit 4 à 8 comprimés par jour, 2 à 4 ampoules buvables ou 2 à 3 injections). Chez l'enfant, la posologie est de 20 mg/Kg/j. La posologie de Spotof est la même mais il n'existe pas de forme injectable. Le bain de bouche avec de l'acide tranexamique (10 mL d'une solution à 5%) 4-6 fois par jour peut également être bénéfique pour contrôler le saignement gingival [266].

L'éthamsylate (DICYNONE®) est également proposé lors des ménorragies ou encore aux sujets présentant une tendance hémorragique accrue et devant subir une avulsion dentaire ou une amygdalectomie. Il est à préciser que ces indications n'ont pas fait l'objet d'études contrôlées. La posologie suggérée est de 1500 mg par jour (6 comprimés à 250 mg ou 3 comprimés à 500 mg ou encore l'usage d'ampoules de 250 mg administrables par voie intraveineuse ou intramusculaire) [268].

b) La desmopressine

La desmopressine (1-desamino-8-D-arginine vasopressin), analogue synthétique de la vasopressine, peut raccourcir le temps de saignement chez certains patients à BSS mais pas tous [3], une dose d'essai est recommandée pour déterminer si le patient peut en bénéficier [261]. Il agit par la stimulation de la sortie du facteur de vWF de la cellule endothéliale, ce qui permet d'augmenter l'adhésion plaquettaire aux parois vasculaires.

La Desmopressine peut être administrée par voie intraveineuse (Minirin® 4µg/1 ml) ou par voie intranasale (Octim spray®). La posologie est de 0,3 µg/Kg de poids corporel pour la voie intraveineuse, la dose doit être réduite à 0,2 µg/Kg chez le sujet âgé ou présentant des troubles cardiovasculaires. La dose totale est diluée dans 50 à 100 ml de sérum physiologique et administrée en perfusion intraveineuse lente (15 à 30 minutes). La posologie intranasale est de 150µg en dessous de 50 Kg de poids corporel et 300 µg au-dessus (1pulvérisation dans chaque narine). En cas de traitement préventif, l'administration doit avoir lieu immédiatement avant l'acte chirurgical. DDAVP n'est généralement pas administrée aux enfants de moins de 2 ans chez qui le risque d'hyponatrémie peut être supérieur.

La perfusion de DDAVP peut induire une tachycardie légère, des maux de tête. Ces symptômes dérivent des effets vasodilatateurs du médicament et peuvent être atténués par la vitesse de perfusion. Pour son effet antidiurétique, DDAVP induit rarement l'hyponatrémie et la surcharge volumique pour cela l'apport hydrique devrait donc être limité au cours du traitement. L'infarctus du myocarde et l'accident vasculaire cérébral ont été décrits chez quelques patients traités pour l'hémophilie [122]. Et les saignements urémiques [123]. (Ce médicament doit être utilisé avec prudence chez les patients âgés atteints de maladies cardiovasculaires) [266].

c) Hémostatiques à usage local : [262, 274]

Les plaies superficielles peuvent être gérées par compression ou l'utilisation d'une éponge de gélatine ou d'une gaze imbibée d'acide tranexamique. Les adhésifs de fibrine contenant du fibrinogène humain et de la thrombine avec ou sans acide tranexamique peuvent être efficaces pour arrêter le saignement. Pour les extractions dentaires, les gouttières d'acrylique souple aident à obtenir l'hémostase lorsqu'elles sont utilisées conjointement avec d'autres moyens tels que les agents de scellement à la fibrine, l'acide tranexamique administré par voie orale ou l'administration intraveineuse de rFVIIa ou de desmopressine. Le contrôle de l'épistaxis chez les patients à BSS, peut être difficile. Le retrait du nez doit être effectué très doucement en raison d'un risque important de resaignement.

Les médications peuvent être utilisées au niveau du site de l'hémorragie :

- Des compresses de collagène d'origine bovine (Pangen®) peuvent être appliquées sur le site hémorragique. Le collagène exogène participe au processus d'hémostase permettant l'adhésion des plaquettes.
- Colles hémostatiques (Tissucol Kit®, Beriplast®) : uniquement réservées à l'usage hospitalier, ces colles sont utilisées comme traitement adjuvant destiné à favoriser l'hémostase locale lors des interventions chirurgicales.

d) Le facteur VIIa activé (FVIIa) (Novoseven®) :

Obtenu par le génie génétique, utilisé avec succès dans l'hémophilie avec inhibiteurs [280]. Il a été également employé à titre compassionnel dans des accidents hémorragiques engageant le pronostic vital et résistant aux thérapeutiques habituelles [262].

Le facteur VIIa activé (FVIIa) a été rapporté pour réduire les temps de saignement chez les patients atteints de BSS. Cependant, FVIIa est un médicament expérimental dans le traitement de la thrombocytopénie héréditaire, et des effets indésirables ont été rapportés [261].

Il représente une alternative intéressante chez les patients ayant des anticorps anti-HLA et présentant une absence de réponse aux transfusions plaquettaires. En augmentant la quantité de thrombine générée, cet agent thérapeutique améliore l'interaction des plaquettes déficientes avec le sous-endothélium via la fibrine formée [281]

L'administration de ce produit est généralement réalisée dans un hôpital au sein d'un centre spécialisé chez des patients allo immunisés ou réfractaires aux transfusions. Un bolus initial intraveineux de 80 à 90 µg/kg sur 2 à 5 minutes est préconisé. Il sera suivi après un intervalle de deux à trois heures, en fonction du contexte chirurgical et de la sévérité de l'hémorragie, par une injection d'une dose variant de 60 à 120 µg/kg. L'intervalle entre les doses sera alors espacé progressivement (4, 6, 8 ou 12h) aussi longtemps que le traitement sera jugé nécessaire.

Des effets indésirables graves, y compris un infarctus du myocarde, un accident vasculaire cérébral ischémique et une thromboembolie veineuse, ont été rapportés chez environ 1% des 700 000 doses de rFVIIa administrées à des patients hémophiles avec des inhibiteurs [23]. Par conséquent, l'utilisation du rFVIIa doit être soigneusement considérée en particulier chez les patients BSS atteints de maladie cardiovasculaire [274].

e) Prise en charge par les hormones féminines et pendant la grossesse :

La ménarche chez les patientes atteintes de BSS est fréquemment associée à un saignement excessif nécessitant des transfusions sanguines. Cela peut résulter d'une stimulation prolongée des œstrogènes des cycles non ovulatoires avec une prolifération étendue de l'endomètre conduisant à des saignements intermenstruels [282]. Dans de tels cas, l'hémostase peut être obtenue par perfusion intraveineuse d'œstrogènes conjugués à forte dose pendant 24 à 48 heures, suivie de fortes doses d'œstrogène-progestine oral. Par la suite, un contraceptif oral combiné peut être administré en continu pendant 2 à 3 mois.

Pour les ménorragies ultérieures, également fréquente chez les patients atteints de BSS, et si les agents antifibrinolytiques ne parviennent pas à diminuer la perte de sang, les contraceptifs oraux continus peuvent être utiles pour éliminer les règles et devraient être envisagés en particulier chez les femmes souffrant d'anémie due à une déplétion en fer [283]. L'acéate de medroxyprogesterone administré tous les 3 mois est une alternative quand les contraceptifs oraux combinés sont contre-indiqués. Un autre agent utilisé pour supprimer les règles est l'analogue de l'hormone de libération des gonadotrophines qui cause l'hypoestrogénisme. Cependant, son administration est associée à des symptômes de la ménopause [274].

Une excellente revue de grossesse chez les patients avec BSS a été récemment publiée [284]. Des hémorragies primaires et secondaires du post-partum ont été observées dans 50% de ces cas et des transfusions plaquettaires prophylactiques pendant 1 à 2 semaines doivent être envisagées.

4. Autres Thérapies :

a) Splénectomie :

Dans certains cas, la splénectomie a apparemment été bénéfique dans la thrombocytopénie modératrice et la sévérité des symptômes cliniques, bien que ce traitement doive être évité en raison du risque élevé d'hémorragie péri-chirurgicale et du manque de données contrôlées à l'appui de son utilisation [3].

b) Greffe de moelle osseuse :

Bien que les mesures préventives et thérapeutiques décrites précédemment soient privilégiées dans la majorité des cas, l'allogreffe de moelle osseuse garde une indication dans les cas où le pronostic vital est menacé.

À ce jour, trois patients atteints de BSS ont été transplantés avec succès avec des cellules souches de frères et soeurs HLA-identiques, des donneurs non apparentés appariés ou des donneurs familiaux appariés [278]. Une évaluation attentive du rapport bénéfice / risque de cette procédure doit être évaluée chez chaque individu.

c) Les Thérapies futures :

Peut-être, plus intéressant sont des efforts récents de produire des mégacaryocytes et/ou des plaquettes ex-vivo à partir de la cellule pluripotente hématopoïétique [285], ces études offrent la possibilité de reprogrammer ses propres cellules hématopoïétiques ou les fibroblastes pour générer les cellules pluripotentes hématopoïétiques qui peuvent alors être corrigées selon le défaut plaquettaire, permettant ainsi l'autotransfusion d'HLA-IDENTIQUES, des plaquettes génétiquement corrigées.

Autrement, les banques de cellules pluripotentes hématopoïétiques produisant des plaquettes ex-vivo peuvent un jour permettre la transfusion de ses propres plaquettes ou HLA-compatibles.

5. Conseil Génétique :

Compte tenu du risque hémorragique, le prélèvement de sang foetal reste contre-indiqué dans ce contexte. En cas de consanguinité, il est néanmoins possible de réaliser le diagnostic prénatal grâce aux progrès de la biologie moléculaire. L'ADN est isolé à partir du sang ou de l'urine ou même extrait des villosités choriales, autorisant alors le criblage de certaines mutations via la méthode dite de PCR-SSCP (polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism) ou l'analyse de restriction spécifique d'allèle.

CONCLUSION

Le syndrome de Bernard-Soulier est l'un des troubles plaquettaires héréditaires, caractérisé par une anomalie fonctionnelle du complexe plaquettaire GPIb-IX-V. La maladie est très variable avec des tendances hémorragiques qui peuvent aller de légères à sévères, mettant ainsi la vie du patient en danger. Les études d'agrégation plaquettaire et, plus définitivement, la cytométrie en flux peuvent fournir un diagnostic précis de cette maladie rare.

Avec une bonne éducation, des soins adéquats et la prévention des traumatismes, les patients peuvent mener une vie assez normale. Néanmoins, la survenue éventuelle de saignements sévères en cas de traumatisme et d'intervention chirurgicale doit toujours être prise en compte et traitée de manière adéquate.

Depuis sa description clinique en 1948, l'analyse de ses défauts fonctionnels et moléculaires a donné naissance à une grande partie de notre compréhension actuelle de la structure et des fonctions du complexe GPIb / IX / V et du mécanisme moléculaire de l'hémostase primaire. Les informations générées par ces études continueront certainement à fournir des informations utiles sur la biologie plaquettaire, l'aide au traitement futur de la maladie et le développement de nouveaux antithrombotiques et substituts plaquettaires.

Bien qu'il soit encore considéré comme un trouble rare, sur la base du nombre et du type de mutations identifiées jusqu'à présent, le nombre de cas et de causes de BSS devrait augmenter à l'avenir, coïncidant avec l'amélioration des approches diagnostiques et le séquençage qui devient de plus ne plus une routine.

A ce jour, aucun patient atteint de BSS n'a été identifié avec une mutation de la sous-unité GPV mais l'existence de tels défauts ne peut pas être exclue, et ils pourraient potentiellement aboutir à des formes variantes ou bénignes de BSS. Beaucoup de questions nécessitent encore une étude plus approfondie, entourant le mécanisme des mutations de type Bolzano où la GPIba est exprimée mais fonctionnellement défectueuse sur des plaquettes anormalement volumineuses, et des mécanismes pour la façon dont la GP Ib-IX-V contrôle la production et la taille des plaquettes.

RESUME

RESUME

Titre : Syndrome de Bernard-Soulier : Avancées récentes

Auteur : Youness BOUKAICI

Mots Clés : Syndrome de Bernard-Soulier, dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale, complexe GPIb-IX-V.

Le Syndrome de Bernard-Soulier (BSS) ou la dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale est une thrombopathie constitutionnelle hémorragique décrite pour la première fois en 1948 par Jean Bernard et Jean-Pierre Soulier. Ce syndrome, à transmission autosomique récessive, est la conséquence d'un déficit qualitatif ou quantitatif d'un des éléments du complexe GPIb-IX-V, qui est le récepteur plaquettaire du facteur Willebrand (vWF). Les patients BSS présentent un syndrome hémorragique plus ou moins grave commence dès l'enfance précoce et dont la sévérité et la fréquence diffèrent d'un patient à l'autre. Il est, essentiellement, muqueux fait d'épistaxis bilatérales et récidivantes, gingivorragies, ménorragie, hémorragies du post-partum, un saignement excessif et prolongé après un acte vulnérant. Hématologiquement, le BSS se caractérise par des plaquettes géantes (VPM 12 à 15fl), un taux de plaquettes normal ou une thrombopénie modérée. L'étude de l'agrégation plaquettaire montre une réponse normale à des agonistes comme l'ADP et le collagène et une absence d'agrégation des plaquettes à la ristocétine qui est un processus dépendant de l'interaction du vWF avec la GP Ib- IX-V. La cytométrie de flux retrouve une expression faible voire absente des glycoprotéines GPIb-IX-V (CD42a, CD42b). Génétiquement, ce syndrome est conséquent à des mutations homozygotes affectant les gènes des glycoprotéines : GPIba, GPIb β ou GP9. Les hétérozygotes ont une expression réduite de moitié de GPIb-IX-V mais ne présentent pas de syndrome hémorragique et peuvent ne pas être thrombopéniques. La prise en charge thérapeutique implique à la fois des mesures préventives générales et un traitement spécifique curatif. La transfusion plaquettaire reste la meilleure mesure thérapeutique pour le saignement incontrôlé au cours des épisodes hémorragiques ou des interventions chirurgicales.

ABSTRACT

Title: Bernard-Soulier Syndrome: Recent Advances

Author: Youness BOUKAICI

Keywords: Bernard-Soulier syndrome, congenital hemorrhagic thrombocytic dystrophy, GPIb-IX-V complex.

Bernard-Soulier syndrome (BSS) or congenital hemorrhagic thrombocytic dystrophy is a constitutional haemorrhagic thrombopathy first described in 1948 by Jean Bernard and Jean-Pierre Soulier. This syndrome, with autosomal recessive inheritance, is the consequence of a qualitative or quantitative deficiency of one of the elements of the GPIb-IX-V complex, which is the platelet receptor of von Willebrand factor (vWF). BSS patients have a more or less severe bleeding syndrome that begins in early childhood and the severity and frequency differ from one patient to another. It is, essentially, mucous made of bilateral and recurrent epistaxis, gingivorragies, menorrhagia, postpartum haemorrhage, excessive bleeding and prolonged after a vulnante act. Hematologically, BSS is characterized by giant platelets (MPV 12-15), normal platelet count, or moderate thrombocytopenia. The study of platelet aggregation shows a normal response to agonists such as ADP and collagen and a lack of platelet aggregation to ristocetin which is a process dependent on the interaction of vWF with GP Ib-IX -V. Flow cytometry found a weak or absent expression of glycoproteins GPIb-IX-V (CD42a, CD42b). Genetically, this syndrome is consequent to homozygous mutations affecting the glycoprotein genes: GPIba, GPIb β or GP9. Heterozygotes have a half-expression of GPIb-IX-V but do not have hemorrhagic syndrome and may not be thrombocytopenic. Therapeutic management involves both general preventive measures and specific curative treatment. Platelet transfusion remains the best therapeutic measure for uncontrolled bleeding during bleeding episodes or surgical procedures.

ملخص

العنوان : متلازمة برنارد سولير معطيات جديدة

الكاتب : يونس بوقيسى

الكلمات الأساسية : متلازمة برنارد سولير، وضمور الخثرة التزفية الخلقية، المركب البروتيني

.Ib/IX/V

متلازمة برنارد سولير هو اضطراب نزيفي وصف لأول مرة عام 1948 من قبل جان برنار وجان بيير سوليه. هذه المتلازمة، هي مرض وراثي متاحي نادر ينبع عن نقص أو خلل نوعي أو كمي في المركب البروتيني GPIB-IX-V الذي يعتبر المستقبل الصفيحي للعامل فون ويلبراند .(vWF).

اعراض المرض عادة تظهر في مرحلة الطفولة كما يمكن أن تظهر في الأيام الأولى بعد الولادة وتتمثل بالأساس في رعاف متكرر، نزيف اللثة، وغزاره الطمث، نزيف ما بعد الولادة، ونزيف لفترة طويلة في حالة الجروح السطحية، والنزيف المفرط ولفترات طويلة بعد إصابة خطيرة أو عملية جراحية مركبة، ونادراً نزيف في الجهاز الهضمي والمعوي .تختلف شدة وتواتر النزيف من مريض إلى آخر.

يعتمد التشخيص على التحاليل البيولوجية في المختبر حيث تظهر الصفائح الدموية العملاقة التي تميز المتلازمة، اضافة الى نقص في عدد الصفائح الدموية وكذا طول المدة التي تصل الى 20 دقيقة عند اختبار "مدة النزيف". ويتم تأكيد التشخيص من خلال اختبار "تراكم الصفائح الدموية" الذي يظهر استجابة طبيعية للمنبهات مثل ADP والكولاجين وغياب الاستجابة لمنبه الريستوسين الذي يستوجب وجود التفاعل بين المركب GP Ib/IX/V وعامل فون ويلبراند (vWF).

ويشتمل العلاج على كل من التدابير الوقائية العامة لتجنب النزيف وعلى العلاج المحدد .يبقى نقل الصفائح الدموية أفضل إجراء علاجي للنزيف الغير المنضبط أثناء نوبات النزف أو العمليات الجراحية.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Kunishima, S., et al., *Novel nonsense mutation in the platelet glycoprotein Ib β gene associated with Bernard-Soulier syndrome*. American journal of hematology, 2002. **71**(4): p. 279-284.
- [2] Suzuki, K., et al., *Novel point mutation in the leucine-rich motif of the platelet glycoprotein IX associated with Bernard-Soulier syndrome*. British journal of haematology, 1997. **99**(4): p. 794-800.
- [3] López, J.A., et al., *Bernard-Soulier syndrome*. Blood, 1998. **91**(12): p. 4397-4418.
- [4] Kahn, M.L., et al., *Glycoprotein V-deficient platelets have undiminished thrombin responsiveness and do not exhibit a Bernard-Soulier phenotype*. Blood, 1999. **94**(12): p. 4112-4121.
- [5] Lanza, F., *Bernard-Soulier syndrome (hemorrhagiparous thrombocytic dystrophy)*. Orphanet journal of rare diseases, 2006. **1**(1): p. 1.
- [6] Kenny, D., et al., *The critical interaction of glycoprotein (GP) Ib β with GPIX—a genetic cause of Bernard-Soulier syndrome*. Blood, 1999. **93**(9): p. 2968-2975.
- [7] Uff, S., et al., *Crystal structure of the platelet glycoprotein Iba N-terminal domain reveals an unmasking mechanism for receptor activation*. Journal of Biological Chemistry, 2002. **277**(38): p. 35657-35663.
- [8] Hadjkacem, B., et al., *Bernard Soulier Syndrome: a rare bleeding disorder with a wide range of genetic defects*. Journal of coagulation disorders, 2010. **2**(3).
- [9] Trzeciak, M., C. Vinciguerra, and J. Bordet, *Physiologie et exploration de l'hémostase et de la thrombose: hémostase primaire*. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie, 1997: p. 13-019.
- [10] Miller, J.L., V. Lyle, and D. Cunningham, *Mutation of leucine-57 to phenylalanine in a platelet glycoprotein Ib alpha leucine tandem repeat occurring in patients with an autosomal dominant variant of Bernard-Soulier disease*. Blood, 1992. **79**(2): p. 439-446.

- [11] Savoia, A., et al., *Autosomal dominant macrothrombocytopenia in Italy is most frequently a type of heterozygous Bernard-Soulier syndrome*. Blood, 2001. **97**(5): p. 1330-1335.
- [12] Moran, N., et al., *Surface expression of glycoprotein Iba is dependent on glycoprotein Ib β : evidence from a novel mutation causing Bernard-Soulier syndrome*. Blood, 2000. **96**(2): p. 532-539.
- [13] Nurden, A., *Qualitative disorders of platelets and megakaryocytes*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2005. **3**(8): p. 1773-1782.
- [14] M., Z., *Les plaquettes sanguines : structure, fonctions, méthodes d'exploration*, in *CHU 49000 Angers France*. 2006, Faculté de Médecine: disponible sur: <http://storage.canalblog.com/99/65/47>.
- [15] Guillot, N., *PLAQUETTES SANGUINES ET MEGACARYOCYTES HUMAINS: IMPACT DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS D'ACIDE DOCOSAHEXAENOÏQUE SUR LEUR ACTIVATION ET LEUR ETAT REDOX*. 2008, Université Claude Bernard-Lyon I.
- [16] S., B., *La Physiologie plaquettaire*. , in *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie* 1991 ; .
- [17] Wintrobe M, L.G., Bithell TC, Athens JW, Boggs DR, forester J and al., *Hématologie clinique*. Tome 1. Padoue : Piccin, 1990 ; . **8e éd**: p. 399-412.
- [18] I., E., *Thrombopathies acquises et congénitales*. , in *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Hématologie* 2006.
- [19] Kestin, A.S., et al., *Effect of strenuous exercise on platelet activation state and reactivity*. Circulation, 1993. **88**(4): p. 1502-1511.
- [20] MICHELSON, A.D., *The use of flow cytometry to study platelet activation*. Platelet function and signal transduction: a practical approach, 1996.

- [21] Italiano, J. and R. Shivdasani, *Megakaryocytes and beyond: the birth of platelets*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2003. **1**(6): p. 1174-1182.
- [22] Hartwig, J. and J. Italiano, *The birth of the platelet*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2003. **1**(7): p. 1580-1586.
- [23] Hartwig, J.H. and M. DeSisto, *The cytoskeleton of the resting human blood platelet: structure of the membrane skeleton and its attachment to actin filaments*. The Journal of cell biology, 1991. **112**(3): p. 407-425.
- [24] Gnatenko, D.V., et al., *Transcript profiling of human platelets using microarray and serial analysis of gene expression*. Blood, 2003. **101**(6): p. 2285-2293.
- [25] Samama, C.-M., *Les troubles graves de l'hémostase*. Réanimation, 2007. **16**(7): p. 673-677.
- [26] Bellucci, S., *Physiologie de l'hémostase primaire*. Hématologie Revue, Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, 2002.
- [27] Sefrioui, M., *Plaquettes et transfusion sanguines*. 2006, thèse en pharmacie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V-Souissi. p. 215.
- [28] Andrews, R., et al., *Glycoprotein Ib-IX-V*. The international journal of biochemistry & cell biology, 2003. **35**(8): p. 1170-1174.
- [29] Lopez, J.A., et al., *Cloning of the alpha chain of human platelet glycoprotein Ib: a transmembrane protein with homology to leucine-rich alpha 2-glycoprotein*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1987. **84**(16): p. 5615-5619.
- [30] Du, X., et al., *Glycoprotein Ib and glycoprotein IX are fully complexed in the intact platelet membrane*. Blood, 1987. **69**(5): p. 1524-1527.
- [31] Wu, G., et al., *Human endothelial cells in culture and in vivo express on their surface all four components of the glycoprotein Ib/IX/V complex*. Blood, 1997. **90**(7): p. 2660-2669.

- [32] Kobe, B. and J. Deisenhofer, *The leucine-rich repeat: a versatile binding motif*. Trends in biochemical sciences, 1994. **19**(10): p. 415-421.
- [33] López, J.A., *The platelet glycoprotein Ib-IX complex*. Blood coagulation & fibrinolysis, 1994. **5**(1): p. 97-120.
- [34] Modderman, P., et al., *Glycoproteins V and Ib-IX form a noncovalent complex in the platelet membrane*. Journal of Biological Chemistry, 1992. **267**(1): p. 364-369.
- [35] Michelson, A.D., *Platelets*. 2013: Academic Press.
- [36] Wenger, R.H., et al., *The 5' flanking region and chromosomal localization of the gene encoding human platelet membrane glycoprotein Iba*. Gene, 1989. **85**(2): p. 517-524.
- [37] Yagi, M., et al., *Human platelet glycoproteins V and IX: mapping of two leucine-rich glycoprotein genes to chromosome 3 and analysis of structures*. Biochemistry, 1995. **34**(49): p. 16132-16137.
- [38] Fox, J., L. Aggerbeck, and M. Berndt, *Structure of the glycoprotein Ib. IX complex from platelet membranes*. Journal of Biological Chemistry, 1988. **263**(10): p. 4882-4890.
- [39] Dong, J.-f., C.Q. Li, and J.A. Lopez, *Tyrosine sulfation of the glycoprotein Ib-IX complex: identification of sulfated residues and effect on ligand binding*. Biochemistry, 1994. **33**(46): p. 13946-13953.
- [40] Ward, C.M., et al., *Mocarhagin, a Novel Cobra Venom Metalloproteinase, Cleaves the Platelet von Willebrand Factor Receptor Glycoprotein Iba. Identification of the Sulfated Tyrosine/Anionic Sequence Tyr-276– Glu-282 of Glycoprotein Iba as a Binding Site for von Willebrand Factor and α-Thrombin*. Biochemistry, 1996. **35**(15): p. 4929-4938.
- [41] Kobe, B. and J. Deisenhofer, *Crystal structure of porcine ribonuclease inhibitor; a protein with leucine-rich repeats*. Nature, 1993. **366**(6457): p. 751-756.

- [42] Judson, P., D. Anstee, and J. Clamp, *Isolation and characterization of the major oligosaccharide of human platelet membrane glycoprotein GPIb*. Biochemical Journal, 1982. **205**(1): p. 81-90.
- [43] KORREL, S.A., et al., *Structural studies on the O-linked carbohydrate chains of human platelet glycocalicin*. The FEBS Journal, 1984. **140**(3): p. 571-576.
- [44] Ishida, F., et al., *The largest variant of platelet glycoprotein Ib alpha has four tandem repeats of 13 amino acids in the macroglycopeptide region and a genetic linkage with methionine145*. Blood, 1995. **86**(4): p. 1357-1360.
- [45] López, J.A., E.H. Ludwig, and B.J. McCarthy, *Polymorphism of human glycoprotein Ib alpha results from a variable number of tandem repeats of a 13-amino acid sequence in the mucin-like macroglycopeptide region. Structure/function implications*. Journal of Biological Chemistry, 1992. **267**(14): p. 10055-10061.
- [46] Lopez, J.A., et al., *The alpha and beta chains of human platelet glycoprotein Ib are both transmembrane proteins containing a leucine-rich amino acid sequence*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1988. **85**(7): p. 2135-2139.
- [47] Wardell, M.R., et al., *Platelet glycoprotein Ib beta is phosphorylated on serine 166 by cyclic AMP-dependent protein kinase*. Journal of Biological Chemistry, 1989. **264**(26): p. 15656-15661.
- [48] Fox, J. and M. Berndt, *Cyclic AMP-dependent phosphorylation of glycoprotein Ib inhibits collagen-induced polymerization of actin in platelets*. Journal of Biological Chemistry, 1989. **264**(16): p. 9520-9526.
- [49] Hickey, M.J., S.A. Williams, and G.J. Roth, *Human platelet glycoprotein IX: an adhesive prototype of leucine-rich glycoproteins with flank-center-flank structures*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1989. **86**(17): p. 6773-6777.

- [50] BERNDT, M.C., et al., *Purification and preliminary characterization of the glycoprotein Ib complex in the human platelet membrane*. The FEBS Journal, 1985. **151**(3): p. 637-649.
- [51] Muszbek, L. and M. Laposata, *Glycoprotein Ib and glycoprotein IX in human platelets are acylated with palmitic acid through thioester linkages*. Journal of Biological Chemistry, 1989. **264**(17): p. 9716-9719.
- [52] Schick, P.K. and J. Walker, *The acylation of megakaryocyte proteins: glycoprotein IX is primarily myristoylated while glycoprotein Ib is palmitoylated*. Blood, 1996. **87**(4): p. 1377-1384.
- [53] HICKEY, M.J., et al., *Human platelet glycoprotein V: characterization of the polypeptide and the related Ib-V-IX receptor system of adhesive, leucine-rich glycoproteins*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1993. **90**(18): p. 8327-8331.
- [54] Lanza, F., et al., *Cloning and characterization of the gene encoding the human platelet glycoprotein V. A member of the leucine-rich glycoprotein family cleaved during thrombin-induced platelet activation*. Journal of Biological Chemistry, 1993. **268**(28): p. 20801-20807.
- [55] Berndt, M.C. and D.R. Phillips, *Purification and preliminary physicochemical characterization of human platelet membrane glycoprotein V*. Journal of Biological Chemistry, 1981. **256**(1): p. 59-65.
- [56] Schaff, M., *Etude des mécanismes d'adhérence et d'activation des plaquettes sanguines appliquée à l'identification de nouvelles cibles anti-thrombotiques plus sûres*. 2012, Université de Strasbourg.
- [57] Lebart, M.-C., et al., *Characterization of the actin binding site on smooth muscle filamin*. Journal of Biological Chemistry, 1994. **269**(6): p. 4279-4284.

- [58] Calderwood, D.A., S.J. Shattil, and M.H. Ginsberg, *Integrins and actin filaments: reciprocal regulation of cell adhesion and signaling*. Journal of Biological Chemistry, 2000. **275**(30): p. 22607-22610.
- [59] Mangin, P., et al., *Identification of five novel 14-3-3 isoforms interacting with the GPIb-IX complex in platelets*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2009. **7**(9): p. 1550-1555.
- [60] WHEELER-JONES, C.P., et al., *Identification of 14-3-3 proteins in human platelets: effects of synthetic peptides on protein kinase C activation*. Biochemical Journal, 1996. **315**(1): p. 41-47.
- [61] Aitken, A. *14-3-3 proteins: a historic overview*. in *Seminars in cancer biology*. 2006. Elsevier.
- [62] Gu, M., et al., *Analysis of the roles of 14-3-3 in the platelet glycoprotein Ib-IX-mediated activation of integrin α IIb β 3 using a reconstituted mammalian cell expression model*. The Journal of cell biology, 1999. **147**(5): p. 1085-1096.
- [63] Mangin, P., et al., *Identification of a novel 14-3-3 ζ binding site within the cytoplasmic tail of platelet glycoprotein Iba*. Blood, 2004. **104**(2): p. 420-427.
- [64] Andrews, R.K., et al., *Interaction of calmodulin with the cytoplasmic domain of the platelet membrane glycoprotein Ib-IX-V complex*. Blood, 2001. **98**(3): p. 681-687.
- [65] Kasirer-Friede, A., et al., *Signaling through GP Ib-IX-V activates α IIb β 3 independently of other receptors*. Blood, 2004. **103**(9): p. 3403-3411.
- [66] Munday, A.D., M.C. Berndt, and C.A. Mitchell, *Phosphoinositide 3-kinase forms a complex with platelet membrane glycoprotein Ib-IX-V complex and 14-3-3 ζ* . Blood, 2000. **96**(2): p. 577-584.
- [67] Yap, C.L., et al., *Essential role for phosphoinositide 3-kinase in shear-dependent signaling between platelet glycoprotein Ib/V/IX and integrin α IIb β 3*. Blood, 2002. **99**(1): p. 151-158.

- [68] Wu, Y., et al., *Interaction between von Willebrand factor and glycoprotein Ib activates Src kinase in human platelets: role of phosphoinositide 3-kinase*. Blood, 2003. **101**(9): p. 3469-3476.
- [69] Dyson, J.M., et al., *SHIP-2 forms a tetrameric complex with filamin, actin, and GPIb-IX-V: localization of SHIP-2 to the activated platelet actin cytoskeleton*. Blood, 2003. **102**(3): p. 940-948.
- [70] Feng, S., et al., *Pathological shear stress stimulates the tyrosine phosphorylation of α-actinin associated with the glycoprotein Ib-IX complex*. Biochemistry, 2002. **41**(4): p. 1100-1108.
- [71] Kelly, M.D., et al., *Complementary DNA cloning of the alternatively expressed endothelial cell glycoprotein Ib beta (GPIb beta) and localization of the GPIb beta gene to chromosome 22*. Journal of Clinical Investigation, 1994. **93**(6): p. 2417.
- [72] Hickey, M.J. and G. Roth, *Characterization of the gene encoding human platelet glycoprotein IX*. Journal of Biological Chemistry, 1993. **268**(5): p. 3438-3443.
- [73] Wenger, R.H., et al., *Structure of the human blood platelet membrane glycoprotein Iba gene*. Biochemical and biophysical research communications, 1988. **156**(1): p. 389-395.
- [74] Yagi, M., et al., *Structural characterization and chromosomal location of the gene encoding human platelet glycoprotein Ib beta*. Journal of Biological Chemistry, 1994. **269**(26): p. 17424-17427.
- [75] Mikol, D.D., et al., *Structure and chromosomal localization of the gene for the oligodendrocyte-myelin glycoprotein*. The Journal of cell biology, 1990. **111**(6): p. 2673-2679.
- [76] Hashimoto, Y. and J. Ware, *Identification of essential GATA and Ets binding motifs within the promoter of the platelet glycoprotein Iba gene*. Journal of Biological Chemistry, 1995. **270**(41): p. 24532-24539.

- [77] Ravanat, C., et al., *Gene cloning of rat and mouse platelet glycoprotein V: identification of megakaryocyte-specific promoters and demonstration of functional thrombin cleavage*. Blood, 1997. **89**(9): p. 3253-3262.
- [78] Mo, X., et al., *The transmembrane domain of glycoprotein Ib β is critical to efficient expression of glycoprotein Ib-IX complex in the plasma membrane*. Journal of Biological Chemistry, 2006. **281**(32): p. 23050-23059.
- [79] ULSEMÉR, P., et al., *Biosynthesis and intracellular post-translational processing of normal and mutant platelet glycoprotein GPIb-IX*. Biochemical Journal, 2001. **358**(2): p. 295-303.
- [80] Dong, J.-f., S. Gao, and J.A. López, *Synthesis, assembly, and intracellular transport of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex*. Journal of Biological Chemistry, 1998. **273**(47): p. 31449-31454.
- [81] López, J.A., et al., *Glycoprotein (GP) Ib beta is the critical subunit linking GP Ib alpha and GP IX in the GP Ib-IX complex. Analysis of partial complexes*. Journal of Biological Chemistry, 1994. **269**(38): p. 23716-23721.
- [82] Wu, G., F.J. Meloni, and S.S. Shapiro, *Platelet glycoprotein (Gp) IX associates with GpIb alpha in the platelet membrane GpIb complex*. Blood, 1996. **87**(7): p. 2782-2787.
- [83] Li, C.Q., et al., *Expression of platelet glycoprotein (GP) V in heterologous cells and evidence for its association with GP Iba in forming a GP Ib-IX-V complex on the cell surface*. Journal of Biological Chemistry, 1995. **270**(27): p. 16302-16307.
- [84] Dong, J.-F., G. Sae-Tung, and J.A. López, *Role of glycoprotein V in the formation of the platelet high-affinity thrombin-binding site*. Blood, 1997. **89**(12): p. 4355-4363.
- [85] López, J.A., et al., *Efficient plasma membrane expression of a functional platelet glycoprotein Ib-IX complex requires the presence of its three subunits*. Journal of Biological Chemistry, 1992. **267**(18): p. 12851-12859.

- [86] Calverley, D., et al., *Human platelet glycoprotein V: Its role in enhancing expression of the glycoprotein Ib receptor*. Blood, 1995. **86**(4): p. 1361-1367.
- [87] Meyer, S.C. and J.E. Fox, *Interaction of platelet glycoprotein V with glycoprotein Ib-IX regulates expression of the glycoproteins and binding of von Willebrand factor to glycoprotein Ib-IX in transfected cells*. Journal of Biological Chemistry, 1995. **270**(24): p. 14693-14699.
- [88] Sae-Tung, G., J.F. Dong, and J.A. López, *Biosynthetic defect in platelet glycoprotein IX mutants associated with Bernard-Soulier syndrome*. Blood, 1996. **87**(4): p. 1361-1367.
- [89] DONG, J.F., *Cleavage of ultra-large von Willebrand factor by ADAMTS-13 under flow conditions*. Journal of thrombosis and haemostasis, 2005. **3**(8): p. 1710-1716.
- [90] Padilla, A., et al., *P-selectin anchors newly released ultralarge von Willebrand factor multimers to the endothelial cell surface*. Blood, 2004. **103**(6): p. 2150-2156.
- [91] Dong, J.-f., et al., *ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions*. Blood, 2002. **100**(12): p. 4033-4039.
- [92] Lämmle, B., J. Kremer Hovinga, and L. Alberio, *Thrombotic thrombocytopenic purpura*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2005. **3**(8): p. 1663-1675.
- [93] Kulkarni, S., et al., *A revised model of platelet aggregation*. Journal of Clinical Investigation, 2000. **105**(6): p. 783.
- [94] Rauch, A., et al., *Facteur von Willebrand et maladie de Willebrand: nouvelles approches*. Revue Francophone des Laboratoires, 2014. **2014**(463): p. 53-63.
- [95] Kroll, M.H., et al., *Platelets and shear stress*. Blood, 1996. **88**(5): p. 1525-1541.
- [96] Arya, M., et al., *Ultralarge multimers of von Willebrand factor form spontaneous high-strength bonds with the platelet glycoprotein Ib-IX complex: studies using optical tweezers*. Blood, 2002. **99**(11): p. 3971-3977.

- [97] Andrews, R.K., J. López, and M.C. Berndt, *Molecular mechanisms of platelet adhesion and activation*. The international journal of biochemistry & cell biology, 1997. **29**(1): p. 91-105.
- [98] Andrews, R.K. and M.C. Berndt, *The GPIb-IX-V Complex*. Platelets, 2013. **3**: p. 195-213.
- [99] Savage, B., E. Saldívar, and Z.M. Ruggeri, *Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor*. Cell, 1996. **84**(2): p. 289-297.
- [100] Girma, J., et al., *Ristocetin and botrocetin involve two distinct domains of von Willebrand factor for binding to platelet membrane glycoprotein Ib*. Thrombosis and haemostasis, 1990. **64**(2): p. 326-332.
- [101] Dong, J., W. Hyun, and J. Lopez, *Aggregation of mammalian cells expressing the platelet glycoprotein (GP) Ib-IX complex and the requirement for tyrosine sulfation of GP Ib alpha*. Blood, 1995. **86**(11): p. 4175-4183.
- [102] Marchese, P., et al., *Identification of three tyrosine residues of glycoprotein Ib with distinct roles in von Willebrand factor and-thrombin binding*. Journal of Biological Chemistry, 1995. **270**(16): p. 9571-9578.
- [103] Berndt, M.C., et al., *The vascular biology of the glycoprotein Ib-IX-V complex*. THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS-STUTTGART-, 2001. **86**(1): p. 178-188.
- [104] Murata, M., J. Ware, and Z.M. Ruggeri, *Site-directed mutagenesis of a soluble recombinant fragment of platelet glycoprotein Ib alpha demonstrating negatively charged residues involved in von Willebrand factor binding*. Journal of Biological Chemistry, 1991. **266**(23): p. 15474-15480.
- [105] Dong, J.-F., et al., *Ristocetin-dependent, but not botrocetin-dependent, binding of von Willebrand factor to the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex correlates with shear-dependent interactions*. Blood, 2001. **97**(1): p. 162-168.

- [106] Andrews, R.K., et al., *The glycoprotein Ib-IX-V complex in platelet adhesion and signaling*. THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS-STUTTGART-, 1999. **82**: p. 357-364.
- [107] Dong, J.-f., et al., *Novel Gain-of-function Mutations of Platelet Glycoprotein Ib α by Valine Mutagenesis in the Cys209–Cys248 Disulfide Loop FUNCTIONAL ANALYSIS UNDER STATIC AND DYNAMIC CONDITIONS*. Journal of Biological Chemistry, 2000. **275**(36): p. 27663-27670.
- [108] Marchese, P., et al., *Adhesive properties of the isolated amino-terminal domain of platelet glycoprotein Ib α in a flow field*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1999. **96**(14): p. 7837-7842.
- [109] Afshar-Kharghan, V., et al., *Necessity of conserved Asparagine residues in the Leucine-Rich Repeats of platelet glycoprotein Ib α for the proper conformation and function of the ligand-binding region*. Biochemistry, 2000. **39**(12): p. 3384-3391.
- [110] Bodnar, R.J., et al., *Regulation of glycoprotein Ib-IX-von Willebrand factor interaction by cAMP-dependent protein kinase-mediated phosphorylation at Ser 166 of glycoprotein Ib β* . Journal of Biological Chemistry, 2002. **277**(49): p. 47080-47087.
- [111] Coller, B.S., *Inhibition of von Willebrand factor-dependent platelet function by increased platelet cyclic AMP and its prevention by cytoskeleton-disrupting agents*. Blood, 1981. **57**(5): p. 846-855.
- [112] Dai, K., et al., *A critical role for 14-3-3 ζ protein in regulating the VWF binding function of platelet glycoprotein Ib-IX and its therapeutic implications*. Blood, 2005. **106**(6): p. 1975-1981.
- [113] Du, X., *Signaling and regulation of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex*. Current opinion in hematology, 2007. **14**(3): p. 262-269.

- [114] Jurk, K., et al., *Thrombospondin-1 mediates platelet adhesion at high shear via glycoprotein Ib (GPIb): an alternative/backup mechanism to von Willebrand factor*. The FASEB journal, 2003. **17**(11): p. 1490-1492.
- [115] Bonnefoy, A., et al., *Thrombospondin-1 controls vascular platelet recruitment and thrombus adherence in mice by protecting (sub) endothelial VWF from cleavage by ADAMTS13*. Blood, 2006. **107**(3): p. 955-964.
- [116] Farndale, R., et al., *The role of collagen in thrombosis and hemostasis*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2004. **2**(4): p. 561-573.
- [117] Savage, B., M.H. Ginsberg, and Z.M. Ruggeri, *Influence of fibrillar collagen structure on the mechanisms of platelet thrombus formation under flow*. Blood, 1999. **94**(8): p. 2704-2715.
- [118] Nieswandt, B. and S.P. Watson, *Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor?* Blood, 2003. **102**(2): p. 449-461.
- [119] Arthur, J.F., S. Dunkley, and R.K. Andrews, *Platelet glycoprotein VI-related clinical defects*. British journal of haematology, 2007. **139**(3): p. 363-372.
- [120] Goto, S., et al., *Involvement of glycoprotein VI in platelet thrombus formation on both collagen and von Willebrand factor surfaces under flow conditions*. Circulation, 2002. **106**(2): p. 266-272.
- [121] Massberg, S., et al., *A crucial role of glycoprotein VI for platelet recruitment to the injured arterial wall in vivo*. Journal of Experimental Medicine, 2003. **197**(1): p. 41-49.
- [122] Sarratt, K.L., et al., *GPVI and α 2 β 1 play independent critical roles during platelet adhesion and aggregate formation to collagen under flow*. Blood, 2005. **106**(4): p. 1268-1277.
- [123] Berndt, M.C., et al., *Glycoprotein (GP) VI Is Associated with GPIb-IX-V on the Membrane of Resting and Activated Platelets*. 2004, Am Soc Hematology.

- [124] Moog, S., et al., *Platelet glycoprotein V binds to collagen and participates in platelet adhesion and aggregation*. Blood, 2001. **98**(4): p. 1038-1046.
- [125] Romo, G.M., et al., *The glycoprotein Ib-IX-V complex is a platelet counterreceptor for P-selectin*. Journal of Experimental Medicine, 1999. **190**(6): p. 803-814.
- [126] Frenette, P.S., et al., *Platelets roll on stimulated endothelium in vivo: an interaction mediated by endothelial P-selectin*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1995. **92**(16): p. 7450-7454.
- [127] Polgar, J., J. Matuskova, and D. Wagner, *The P-selectin, tissue factor, coagulation triad*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2005. **3**(8): p. 1590-1596.
- [128] Katayama, T., et al., *Immunoneutralization of glycoprotein Iba attenuates endotoxin-induced interactions of platelets and leukocytes with rat venular endothelium in vivo*. Circulation research, 2000. **86**(10): p. 1031-1037.
- [129] Del Conde, I., et al., *Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation*. Blood, 2005. **106**(5): p. 1604-1611.
- [130] Simon, D.I., et al., *Platelet glycoprotein Iba is a counterreceptor for the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18)*. Journal of Experimental Medicine, 2000. **192**(2): p. 193-204.
- [131] Hoffmeister, K.M., et al., *The clearance mechanism of chilled blood platelets*. Cell, 2003. **112**(1): p. 87-97.
- [132] Hoffmeister, K.M., et al., *Glycosylation restores survival of chilled blood platelets*. Science, 2003. **301**(5639): p. 1531-1534.
- [133] Gardiner, E.E., et al., *GPIba-selective activation of platelets induces platelet signaling events comparable to GPVI activation events*. Platelets, 2010. **21**(4): p. 244-252.

- [134] Lu, Q., J. Clemetson, and K.J. Clemetson, *Snake venoms and hemostasis*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2005. **3**(8): p. 1791-1799.
- [135] Lu, Q., J. Clemetson, and K.J. Clemetson, *Translocation of GPIb and Fc receptor γ-chain to cytoskeleton in mucetin-activated platelets*. Journal of thrombosis and haemostasis, 2005. **3**(9): p. 2065-2076.
- [136] Wijeyewickrema, L.C., M.C. Berndt, and R.K. Andrews, *Snake venom probes of platelet adhesion receptors and their ligands*. Toxicon, 2005. **45**(8): p. 1051-1061.
- [137] Bensing, B.A., J.A. López, and P.M. Sullam, *The Streptococcus gordonii surface proteins GspB and Hsa mediate binding to sialylated carbohydrate epitopes on the platelet membrane glycoprotein Iba*. Infection and immunity, 2004. **72**(11): p. 6528-6537.
- [138] Fitzgerald, J.R., T.J. Foster, and D. Cox, *The interaction of bacterial pathogens with platelets*. Nature Reviews Microbiology, 2006. **4**(6): p. 445-457.
- [139] Kerrigan, S.W., et al., *A role for glycoprotein Ib in Streptococcus sanguis-induced platelet aggregation*. Blood, 2002. **100**(2): p. 509-516.
- [140] Pawar, P., et al., *Fluid shear regulates the kinetics and receptor specificity of Staphylococcus aureus binding to activated platelets*. The Journal of Immunology, 2004. **173**(2): p. 1258-1265.
- [141] Ramakrishnan, V., et al., *A thrombin receptor function for platelet glycoprotein Ib-IX unmasked by cleavage of glycoprotein V*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001. **98**(4): p. 1823-1828.
- [142] Adam, F., et al., *Thrombin interaction with platelet membrane glycoprotein Iba*. Trends in molecular medicine, 2003. **9**(11): p. 461-464.
- [143] Celikel, R., et al., *Modulation of α-thrombin function by distinct interactions with platelet glycoprotein Iba*. Science, 2003. **301**(5630): p. 218-221.

- [144] De Cristofaro, R. and E. De Candia, *Thrombin domains: structure, function and interaction with platelet receptors*. Journal of thrombosis and thrombolysis, 2003. **15**(3): p. 151-163.
- [145] Dumas, J.J., et al., *Crystal structure of the GpIba-thrombin complex essential for platelet aggregation*. Science, 2003. **301**(5630): p. 222-226.
- [146] De Candia, E., et al., *Binding of thrombin to glycoprotein Ib accelerates the hydrolysis of Par-1 on intact platelets*. Journal of Biological Chemistry, 2001. **276**(7): p. 4692-4698.
- [147] Vanhoorelbeke, K., et al., *The GPIba–thrombin interaction: far from crystal clear*. Trends in molecular medicine, 2004. **10**(1): p. 33-39.
- [148] Yun, T.H., et al., *Thrombin activation of factor XI on activated platelets requires the interaction of factor XI and platelet glycoprotein Iba with thrombin anion-binding exosites I and II, respectively*. Journal of Biological Chemistry, 2003. **278**(48): p. 48112-48119.
- [149] Baglia, F.A., et al., *Factor XI binding to the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex promotes factor XI activation by thrombin*. Journal of Biological Chemistry, 2002. **277**(3): p. 1662-1668.
- [150] Baglia, F.A., et al., *Factor XI interacts with the leucine-rich repeats of glycoprotein Iba on the activated platelet*. Journal of Biological Chemistry, 2004. **279**(47): p. 49323-49329.
- [151] Baglia, F.A., et al., *The glycoprotein Ib-IX-V complex mediates localization of factor XI to lipid rafts on the platelet membrane*. Journal of Biological Chemistry, 2003. **278**(24): p. 21744-21750.
- [152] Joseph, K., et al., *Platelet glycoprotein Ib: a zinc-dependent binding protein for the heavy chain of high-molecular-weight kininogen*. Molecular Medicine, 1999. **5**(8): p. 555.

- [153] Chavakis, T., et al., *High molecular weight kininogen regulates platelet-leukocyte interactions by bridging Mac-1 and glycoprotein Ib*. Journal of biological chemistry, 2003. **278**(46): p. 45375-45381.
- [154] Bradford, H.N., R.A. Pixley, and R.W. Colman, *Human factor XII binding to the glycoprotein Ib-IX-V complex inhibits thrombin-induced platelet aggregation*. Journal of Biological Chemistry, 2000. **275**(30): p. 22756-22763.
- [155] Weeterings, C., et al., *The glycoprotein Ib-IX-V complex contributes to tissue factor-independent thrombin generation by recombinant factor VIIa on the activated platelet surface*. Blood, 2008. **112**(8): p. 3227-3233.
- [156] Du, X. and M.H. Ginsberg, *Integrin alpha IIb beta 3 and platelet function*. Thrombosis and haemostasis, 1997. **78**(1): p. 96.
- [157] Ikeda, Y., et al., *Transmembrane calcium influx associated with von Willebrand factor binding to GP Ib in the initiation of shear-induced platelet aggregation*. Thrombosis and haemostasis, 1993. **69**(5): p. 496-502.
- [158] Jackson, S.P., et al., *Adhesion receptor activation of phosphatidylinositol 3-kinase. von Willebrand factor stimulates the cytoskeletal association and activation of phosphatidylinositol 3-kinase and pp60c-src in human platelets*. Journal of Biological Chemistry, 1994. **269**(43): p. 27093-27099.
- [159] Kroll, M., et al., *von Willebrand factor binding to platelet GpIb initiates signals for platelet activation*. The Journal of clinical investigation, 1991. **88**(5): p. 1568-1573.
- [160] Razdan, K., J.D. Hellums, and M.H. Kroll, *Shear-stress-induced von Willebrand factor binding to platelets causes the activation of tyrosine kinase (s)*. Biochemical Journal, 1994. **302**(3): p. 681-686.
- [161] Falati, S., C.E. Edmead, and A.W. Poole, *Glycoprotein Ib-IX, a receptor for von Willebrand factor, couples physically and functionally to the Fc receptor gamma-chain, Fyn, and Lyn to activate human platelets*. Blood, 1999. **94**(5): p. 1648-1656.

- [162] Torti, M., et al., *Rap1B and Rap2B translocation to the cytoskeleton by von Willebrand factor involves Fc γ II receptor-mediated protein tyrosine phosphorylation*. Journal of Biological Chemistry, 1999. **274**(19): p. 13690-13697.
- [163] Sullam, P.M., et al., *Physical proximity and functional interplay of the glycoprotein Ib-IX-V complex and the Fc receptor Fc γ RIIA on the platelet plasma membrane*. Journal of Biological Chemistry, 1998. **273**(9): p. 5331-5336.
- [164] Watson, S.P., *Collagen receptor signaling in platelets and megakaryocytes*. Thrombosis and haemostasis, 1999. **82**(2): p. 365-376.
- [165] Tsuji, M., et al., *A novel association of Fc receptor γ -chain with glycoprotein VI and their co-expression as a collagen receptor in human platelets*. Journal of Biological Chemistry, 1997. **272**(38): p. 23528-23531.
- [166] Andrews, R.K., et al., *Binding of purified 14-3-3 ζ signaling protein to discrete amino acid sequences within the cytoplasmic domain of the platelet membrane glycoprotein Ib-IX-V complex*. Biochemistry, 1998. **37**(2): p. 638-647.
- [167] Du, X., et al., *Association of a phospholipase A2 (14-3-3 protein) with the platelet glycoprotein Ib-IX complex*. Journal of Biological Chemistry, 1994. **269**(28): p. 18287-18290.
- [168] Bodnar, R.J., et al., *The cytoplasmic domain of the platelet glycoprotein Iba is phosphorylated at serine 609*. Journal of Biological Chemistry, 1999. **274**(47): p. 33474-33479.
- [169] Calverley, D.C., T.J. Kavanagh, and G.J. Roth, *Human signaling protein 14-3-3 ζ interacts with platelet glycoprotein Ib subunits Iba and Ib β* . Blood, 1998. **91**(4): p. 1295-1303.
- [170] Feng, S., et al., *Cytoplasmic domains of GpIba and GpIb β regulate 14-3-3 ζ binding to GpIb/IX/V*. Blood, 2000. **95**(2): p. 551-557.

- [171] Cunningham, J.G., S.C. Meyer, and J.E. Fox, *The cytoplasmic domain of the subunit of glycoprotein (GP) Ib mediates attachment of the entire GP Ib-IX complex to the cytoskeleton and regulates von Willebrand factor-induced changes in cell morphology*. Journal of Biological Chemistry, 1996. **271**(19): p. 11581-11587.
- [172] Kovacsics, T.J. and J.H. Hartwig, *Thrombin-induced GPIb-IX centralization on the platelet surface requires actin assembly and myosin II activation*. Blood, 1996. **87**(2): p. 618-629.
- [173] Ward, C. and M. Berndt, *Platelets, Thrombosis and the Vessel Wall*. 2000.
- [174] Yuan, Y., et al., *The von Willebrand factor-glycoprotein Ib/V/IX interaction induces actin polymerization and cytoskeletal reorganization in rolling platelets and glycoprotein Ib/V/IX-transfected cells*. Journal of Biological Chemistry, 1999. **274**(51): p. 36241-36251.
- [175] Mistry, N., et al., *Cytoskeletal regulation of the platelet glycoprotein Ib/V/IX-von Willebrand factor interaction*. Blood, 2000. **96**(10): p. 3480-3489.
- [176] Ware, J., S. Russell, and Z.M. Ruggeri, *Generation and rescue of a murine model of platelet dysfunction: the Bernard-Soulier syndrome*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2000. **97**(6): p. 2803-2808.
- [177] Bernard, J., *Sur une nouvelle variete de dystrophie thrombocytaire hemorragique congenitale*. Sem. Hop. Paris., 1948. **24**: p. 3217-3223.
- [178] Andrews, R.K. and M.C. Berndt. *Bernard-Soulier syndrome: an update*. in *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2013. Thieme Medical Publishers.
- [179] Gröttum, K.A. and N.O. Solum, *Congenital thrombocytopenia with giant platelets: a defect in the platelet membrane*. British journal of haematology, 1969. **16**(3): p. 277-290.
- [180] Howard, M.A., R. Hutton, and R. Hardisty, *Hereditary giant platelet syndrome: a disorder of a new aspect of platelet function*. Br Med J, 1973. **2**(5866): p. 586-588.

- [181] CAEN, J.P. and S. LEVY-TOLEDANO, *Interaction between platelets and von Willebrand factor provides a new scheme for primary haemostasis*. Nature, 1973. **244**(135): p. 159-160.
- [182] Weiss, H.J., et al., *Decreased adhesion of giant (Bernard-Soulier) platelets to subendothelium: further implications on the role of the von Willebrand factor in hemostasis*. The American journal of medicine, 1974. **57**(6): p. 920-926.
- [183] Walsh, P., et al., *Hereditary giant platelet syndrome*. British journal of haematology, 1975. **29**(4): p. 639-655.
- [184] Bevers, E., et al., *Platelet prothrombin converting activity in hereditary disorders of platelet function*. British journal of haematology, 1986. **63**(2): p. 335-345.
- [185] Perret, B., et al., *Abnormal phospholipid organization in Bernard-Soulier platelets*. Thrombosis research, 1983. **31**(4): p. 529-537.
- [186] Maldonado, J., et al. *Ultrastructure of platelets in Bernard-Soulier syndrome*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 1975.
- [187] White, J.G., *Inherited abnormalities of the platelet membrane and secretory granules*. Human pathology, 1987. **18**(2): p. 123-139.
- [188] Nurden, A. and J. Caen, *Specific roles for platelet surface glycoproteins in platelet function*. Nature, 1975. **255**(5511): p. 720-722.
- [189] Clemetson, K.J., et al., *Characterization of the platelet membrane glycoprotein abnormalities in Bernard-Soulier syndrome and comparison with normal by surface-labeling techniques and high-resolution two-dimensional gel electrophoresis*. Journal of Clinical Investigation, 1982. **70**(2): p. 304.
- [190] Berndt, M.C., et al., *Additional glycoprotein defects in Bernard-Soulier syndrome: confirmation of genetic basis by parental analysis*. Blood, 1983. **62**(4): p. 800-807.

- [191] Bernard, J., *History of congenital hemorrhagic thrombocytopathic dystrophy*. Blood cells, 1983. **9**(2): p. 179.
- [192] Baccini, V. and M. Alessi, *Les thrombopénies constitutionnelles: démarche diagnostique*. La Revue de Médecine Interne, 2016. **37**(2): p. 117-126.
- [193] Savoia, A., et al., *Clinical and genetic aspects of Bernard-Soulier syndrome: searching for genotype/phenotype correlations*. Haematologica, 2011. **96**(3): p. 417-423.
- [194] Noris, P., et al., *Clinical and laboratory features of 103 patients from 42 Italian families with inherited thrombocytopenia derived from the monoallelic Ala156Val mutation of GPIba (Bolzano mutation)*. Haematologica, 2012. **97**(1): p. 82-88.
- [195] Berndt, M.C., et al., *An acquired Bernard-Soulier-like platelet defect associated with juvenile myelodysplastic syndrome*. British journal of haematology, 1988. **68**(1): p. 97-101.
- [196] Hiçsonmez, G., et al., *Bernard-Soulier-like functional platelet defect in myelodysplastic syndrome and in acute myeloblastic leukemia associated with trilineage myelodysplasia*. The Turkish journal of pediatrics, 1995. **37**(4): p. 425-429.
- [197] Savoia, A., et al., *Spectrum of the Mutations in Bernard-Soulier Syndrome*. Human mutation, 2014. **35**(9): p. 1033-1045.
- [198] Ware, J., et al., *Nonsense mutation in the glycoprotein Ib alpha coding sequence associated with Bernard-Soulier syndrome*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1990. **87**(5): p. 2026-2030.
- [199] Finch, C.N., et al., *Evidence that an abnormality in the glycoprotein Ib alpha gene is not the cause of abnormal platelet function in a family with classic Bernard-Soulier disease*. Blood, 1990. **75**(12): p. 2357-2362.

- [200] Wright, S.D., et al., *Double heterozygosity for mutations in the platelet glycoprotein IX gene in three siblings with Bernard-Soulier syndrome*. Blood, 1993. **81**(9): p. 2339-2347.
- [201] Kunishima, S., et al., *Missense mutations of the glycoprotein (GP) Ib β gene impairing the GPIb α/β disulfide linkage in a family with giant platelet disorder*. Blood, 1997. **89**(7): p. 2404-2412.
- [202] Balduini, C.L. and A. Savoia, *Genetics of familial forms of thrombocytopenia*. Human genetics, 2012. **131**(12): p. 1821-1832.
- [203] Ludlow, L.B., et al., *Identification of a mutation in a GATA binding site of the platelet glycoprotein Ib β promoter resulting in the Bernard-Soulier syndrome*. Journal of Biological Chemistry, 1996. **271**(36): p. 22076-22080.
- [204] Vettore, S., et al., *A A386G biallelic GPIba gene mutation with anomalous behavior: a new mechanism suggested for Bernard-Soulier syndrome pathogenesis*. haematologica, 2011. **96**(12): p. 1878-1882.
- [205] Budarf, M.L., et al., *Identification of a patient with Bernard-Soulier syndrome and a deletion in the DiGeorge/velo-cardio-facial chromosomal region in 22q11. 2*. Human molecular genetics, 1995. **4**(4): p. 763-766.
- [206] Hillmann, A., et al., *A Novel Hemizygous Bernard-Soulier Syndrome (BSS) Mutation in the Amino Terminal Domain of Glycoprotein (GP) Ib β Platelet Characterization and Transfection Studies*. Thrombosis and haemostasis, 2002. **88**(6): p. 1026-1032.
- [207] Tang, J., et al., *Mutation in the leucine-rich repeat C-flanking region of platelet glycoprotein Ib β impairs assembly of von Willebrand factor receptor*. Thrombosis and haemostasis, 2004. **92**(1): p. 75-88.
- [208] Bartsch, I., et al., *Deletion of human GPIBB and SEPT5 is associated with Bernard-Soulier syndrome, platelet secretion defect, polymicrogyria, and developmental delay*. Thrombosis and haemostasis, 2011. **106**(3): p. 475.

- [209] Kunishima, S., et al., *Bernard–Soulier syndrome caused by a hemizygous GPIb β mutation and 22q11.2 deletion*. Pediatrics International, 2013. **55**(4): p. 434-437.
- [210] Antonucci, J.V., et al., *Bernard-Soulier Syndrome: Common Ancestry in Two African American Families With the GP Iba Leu129Pro Mutation*. American journal of hematology, 2000. **65**(2): p. 141-148.
- [211] Kunishima, S., T. Kamiya, and H. Saito, *Genetic abnormalities of Bernard-Soulier syndrome*. International journal of hematology, 2002. **76**(4): p. 319-327.
- [212] De Marco, L., et al., *Variant Bernard-Soulier syndrome type bolzano. A congenital bleeding disorder due to a structural and functional abnormality of the platelet glycoprotein Ib-IX complex*. Journal of Clinical Investigation, 1990. **86**(1): p. 25.
- [213] Ware, J., et al., *Point mutation in a leucine-rich repeat of platelet glycoprotein Ib alpha resulting in the Bernard-Soulier syndrome*. Journal of Clinical Investigation, 1993. **92**(3): p. 1213.
- [214] Ulsemer, P., et al., *Role of the Leucine-Rich Domain of Platelet GPIba in Correct Post-translational Processing-The Nancy I Bernard-Soulier Mutation Expressed on CHO Cells*. Thrombosis and haemostasis, 2000. **84**(1): p. 104-111.
- [215] Miller, J.L., *Platelet-type von Willebrand disease*. Thrombosis and haemostasis, 1996. **75**(6): p. 865-869.
- [216] Sadler, J., *A revised classification of von Willebrand disease. For the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis*. Thrombosis and haemostasis, 1994. **71**(4): p. 520-525.
- [217] Kunishima, S., et al., *De novo mutation of the platelet glycoprotein Ib [alpha] gene in a patient with pseudo-von Willebrand disease*. Blood coagulation & fibrinolysis, 1997. **8**(5): p. 311-315.

- [218] Miller, J.L., et al., *Mutation in the gene encoding the alpha chain of platelet glycoprotein Ib in platelet-type von Willebrand disease*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1991. **88**(11): p. 4761-4765.
- [219] Russell, S.D. and G.J. Roth, *Pseudo-von Willebrand disease: a mutation in the platelet glycoprotein Ib alpha gene associated with a hyperactive surface receptor*. Blood, 1993. **81**(7): p. 1787-1791.
- [220] Takahashi, H., et al., *Substitution of Val for Met at residue 239 of platelet glycoprotein Ib alpha in Japanese patients with platelet-type von Willebrand disease*. Blood, 1995. **85**(3): p. 727-733.
- [221] Koskela, S., et al., *Variant Bernard-Soulier syndrome due to homozygous Asn45Ser mutation in the platelet glycoprotein (GP) IX in seven patients of five unrelated Finnish families*. European journal of haematology, 1999. **62**(4): p. 256-264.
- [222] Li, C., S. Martin, and G. Roth, *The genetic defect in two well-studied cases of Bernard-Soulier syndrome: a point mutation in the fifth leucine-rich repeat of platelet glycoprotein Ib alpha*. Blood, 1995. **86**(10): p. 3805-3814.
- [223] Afrasiabi, A., et al., *Genetic characterization of patients with Bernard-Soulier syndrome and their relatives from Southern Iran*. Platelets, 2007. **18**(6): p. 409-413.
- [224] Kurokawa, Y., et al., *A Missense Mutation (Tyr88 to Cys) in the Platelet Membrane Glycoprotein Ib β Gene Affects GPIb/IX Complex Expression Bernard-Soulier Syndrome in the Homozygous Form and Giant Platelets in the Heterozygous Form*. Thrombosis and haemostasis, 2001. **86**(5): p. 1249-1256.
- [225] Watanabe, R., et al., *Bernard-Soulier syndrome with a homozygous 13 base pair deletion in the signal peptide-coding region of the platelet glycoprotein Ib β gene*. Blood coagulation & fibrinolysis, 2003. **14**(4): p. 387-394.
- [226] Strassel, C., et al., *A 13 base pair deletion in the GPIb β gene in a second unrelated Bernard-Soulier family due to slipped mispairing between direct repeats*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2004. **2**(9): p. 1663-1665.

- [227] Sachs, U.J., et al., *Bernard–Soulier syndrome due to the homozygous Asn-45Ser mutation in GPIX: an unexpected, frequent finding in Germany*. British journal of haematology, 2003. **123**(1): p. 127-131.
- [228] Ali, S., K. Ghosh, and S. Shetty, *Novel genetic abnormalities in Bernard-Soulier syndrome in India*. Annals of hematology, 2014. **93**(3): p. 381-384.
- [229] Li, R. and J. Emsley, *The organizing principle of the platelet glycoprotein Ib–IX–V complex*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2013. **11**(4): p. 605-614.
- [230] Kunishima, S., et al., *Bernard-Soulier syndrome Kagoshima: Ser 444--> stop mutation of glycoprotein (GP) Ib alpha resulting in circulating truncated GPIb alpha and surface expression of GPIb beta and GPIX [see comments]*. Blood, 1994. **84**(10): p. 3356-3362.
- [231] Yamamoto, N., et al., *Novel Bernard-Soulier syndrome variants caused by compound heterozygous mutations (case I) or a cytoplasmic tail truncation (case II) of GPIba*. Thrombosis research, 2013. **131**(4): p. e160-e167.
- [232] Lanza, F., et al., *A Leu7Pro mutation in the signal peptide of platelet glycoprotein (GP) IX in a case of Bernard–Soulier syndrome abolishes surface expression of the GPIb–V–IX complex*. British journal of haematology, 2002. **118**(1): p. 260-266.
- [233] Sandrock, K., et al., *Novel mutation in Bernard-Soulier syndrome*. Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2010. **37**(5): p. 278-283.
- [234] Rosenberg, N., et al., *Trp207Gly in platelet glycoprotein Iba is a novel mutation that disrupts the connection between the leucine-rich repeat domain and the disulfide loop structure and causes Bernard–Soulier syndrome*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2007. **5**(2): p. 378-386.
- [235] Strassel, C., et al., *A novel missense mutation shows that GPIb β has a dual role in controlling the processing and stability of the platelet GPIb-IX adhesion receptor*. Biochemistry, 2003. **42**(15): p. 4452-4462.

- [236] Kenny, D., et al., *Naturally occurring mutations in glycoprotein Ib α that result in defective ligand binding and synthesis of a truncated protein*. Blood, 1998. **92**(1): p. 175-183.
- [237] Kunishima, S., et al., *Molecular genetic analysis of a variant Bernard–Soulier syndrome due to compound heterozygosity for two novel glycoprotein Ib β mutations*. European journal of haematology, 2006. **77**(6): p. 501-512.
- [238] Berndt, M.C. and R.K. Andrews, *Bernard-Soulier syndrome*. 2011, Haematologica.
- [239] Hasanzad, M., *Bernard–Soulier Syndrome (BSS) & tuberculosis: A case report*. International journal of mycobacteriology, 2014. **3**(4): p. 283-285.
- [240] Heslop, H., et al., *Twin pregnancy and parturition in a patient with the Bernard–Soulier syndrome*. European Journal of Haematology, 1986. **37**(1): p. 71-73.
- [241] Michalas, S., A. Malamitsi-Puchner, and H. Tsevrenis, *Pregnancy and Delivery in Bernard-Soulier Syndrome*. Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica, 1984. **63**(2): p. 185-186.
- [242] Saade, G., R. Homsi, and M. Seoud, *Bernard-Soulier syndrome in pregnancy; a report of four pregnancies in one patient, and review of the literature*. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 1991. **40**(2): p. 149-152.
- [243] Zwierzina, W., et al., *Studies in a case of Bernard-Soulier Syndrome*. Acta haematologica, 1983. **69**(3): p. 195-203.
- [244] Grové, S. and J. Kromberg, *Bernard-Soulier syndrome in two Afrikaner families*. South African medical journal= Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde, 1985. **67**(26): p. 1050-1052.
- [245] Zieger, B., et al., *A large Swiss family with Bernard-Soulier syndrome*. Hämostaseologie, 2009. **29**(2): p. 161-167.

- [246] Boeckelmann, D., et al., *Patients with Bernard-Soulier syndrome and different severity of the bleeding phenotype*. Blood Cells, Molecules, and Diseases, 2017.
- [247] Noda, M., et al., *A point mutation in glycoprotein IX coding sequence (Cys73 (TGT) to Tyr (TAT)) causes impaired surface expression of GPIb/IX/V complex in two families with Bernard-Soulier syndrome*. Thrombosis and haemostasis, 1996. **76**(6): p. 874-878.
- [248] Noda, M., et al., *Heterogeneous expression of glycoprotein Ib, IX and V in platelets from two patients with Bernard-Soulier syndrome caused by different genetic abnormalities*. Thrombosis and haemostasis, 1995. **74**(6): p. 1411-1415.
- [249] Laurence Camoin-Jau, *Numération plaquettaire*, ISSN 2211-9698. 2004.
- [250] <http://slideplayer.fr/slide/479853/1/images/12/Num%C3%A9ration+des+Plaquettes+Histogramme+des+PLT+et+param%C3%A8tres+calcul%C3%A9s.jpg>.
- [251] Mhawech, P. and A. Saleem, *Inherited giant platelet disorders: classification and literature review*. American journal of clinical pathology, 2000. **113**(2): p. 176-190.
- [252] Pham, A. and J. Wang, *Bernard-Soulier syndrome: an inherited platelet disorder*. Archives of pathology & laboratory medicine, 2007. **131**(12): p. 1834-1836.
- [253] Tessier-Marteau, A., et al. *Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire*. in *Annales de Biologie Clinique*. 2010.
- [254] Favier, R., et al., *Le diagnostic des thrombopénies constitutionnelles: Diagnosis of inherited thrombocytopenias*. Revue Francophone des Laboratoires, 2006. **2006**(378): p. 35-42.
- [255] Laurence, C.-J., *Temps de saignement* 2004.
- [256] Michelson, A.D., *Platelets*. 3eme ed. 2012. 1353.
- [257] Lind, E., *REVIEW ARTICLE The Bleeding Time Does Not Predict Surgical Bleeding*. 1991.

- [258] Peterson, P., et al., *The preoperative bleeding time test lacks clinical benefit: College of American Pathologists' and American Society of Clinical Pathologists' position article*. Archives of surgery, 1998. **133**(2): p. 134-139.
- [259] Rodgers, R.C. and J. Levin. *A critical reappraisal of the bleeding time*. in *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 1990. Copyright© 1990 by Thieme Medical Publishers, Inc.
- [260] Salles, I.I., et al., *Inherited traits affecting platelet function*. Blood reviews, 2008. **22**(3): p. 155-172.
- [261] Balduini, C.L., A. Iolascon, and A. Savoia, *Inherited thrombocytopenias: from genes to therapy*. haematologica, 2002. **87**(8): p. 860-880.
- [262] EL ANDALOUSSI, K., *Thrombopathies constitutionnelles: Données de la littérature*. 2010.
- [263] Rodgers, G., *Qualitative platelet disorders and von Willebrand disease*. Practical diagnosis of hematologic disorders, 2006. **1**: p. 327-344.
- [264] Ware, J., *Molecular analyses of the platelet glycoprotein Ib-IX-V receptor*. Thrombosis and haemostasis, 1998. **79**(3): p. 466-478.
- [265] GRUNWALD, *Cycle cellulaire et cytométrie en flux*. . 24 fév. 2010: Lavoisier. 300 pages.
- [266] CHADI, F., *Thrombopénies constitutionnelles*. 2016.
- [267] Michelle A. Berny-Lang, A.L.F.I., Marc R. Barnard, and a.A.D. Michelson, *Flow Cytometry, in Platelets Vol. 3*. 2013: ACADEMIC PRESS.
- [268] KOUAKOU, M.K.L.R., *Les thrombopathies: étude bibliographique*. 2009.
- [269] Noris, P., et al., *Thrombocytopenia, giant platelets, and leukocyte inclusion bodies (May-Hegglin anomaly): clinical and laboratory findings*. The American journal of medicine, 1998. **104**(4): p. 355-360.

- [270] Diz-Kucukkaya, R., F. Gushiken, and J. Lopez, *Thrombocytopenia*. Williams Hematology. 7th ed. New York, NY: McGraw-Hill, 2006.
- [271] Bouslimani, K., et al., «*Une thrombopathie de Bernard Soulier acquise»! À propos d'une observation*. La Revue de medecine interne, 2013(34): p. A128-A129.
- [272] McGhie, A.I., et al., *Abolition of cyclic flow variations in stenosed, endothelium-injured coronary arteries in nonhuman primates with a peptide fragment (VCL) derived from human plasma von Willebrand factor-glycoprotein Ib binding domain*. Circulation, 1994. **90**(6): p. 2976-2981.
- [273] Konkle, B.A., *The Bernard-Soulier Syndrome*. Trends in cardiovascular medicine, 1997. **7**(7): p. 239-244.
- [274] Seligsohn, U., *Treatment of inherited platelet disorders*. Haemophilia, 2012. **18**(s4): p. 161-165.
- [275] Nomura, K., et al., *Anesthetic management of a patient with Bernard-Soulier syndrome*. Masui. The Japanese journal of anesthesiology, 1993. **42**(10): p. 1521-1523.
- [276] George, J.N., J.P. Caen, and A.T. Nurden, *Glanzmann's thrombasthenia: the spectrum of clinical disease*. Blood, 1990. **75**(7): p. 1383-1395.
- [277] Gurbel, P.A., et al., *Platelet function monitoring in patients with coronary artery disease*. Journal of the American College of Cardiology, 2007. **50**(19): p. 1822-1834.
- [278] Alamelu, J. and R. Liesner, *Modern management of severe platelet function disorders*. British journal of haematology, 2010. **149**(6): p. 813-823.
- [279] Bolton-Maggs, P.H., et al., *A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO*. British journal of haematology, 2006. **135**(5): p. 603-633.

- [280] Hedner, U. *Recombinant factor VIIa (NovoSeven®) as a hemostatic agent.* in *Seminars in hematolgy*. 2001. Elsevier.
- [281] Lisman, T., et al., *Recombinant factor VIIa enhances deposition of platelets with congenital or acquired α IIb β 3 deficiency to endothelial cell matrix and collagen under conditions of flow via tissue factor-independent thrombin generation.* Blood, 2003. **101**(5): p. 1864-1870.
- [282] Markovitch, O., et al., *Severe juvenile vaginal bleeding due to Glanzmann's thrombasthenia: case report and review of the literature.* American journal of hematology, 1998. **57**(3): p. 225-227.
- [283] Demers, C., et al., *Gynaecological and obstetric management of women with inherited bleeding disorders.* International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics, 2006. **95**(1): p. 75-87.
- [284] Peitsidis, P., et al., *Bernard Soulier syndrome in pregnancy: a systematic review.* Haemophilia, 2010. **16**(4): p. 584-591.
- [285] Gekas, C. and T. Graf, *Induced pluripotent stem cell-derived human platelets: one step closer to the clinic.* Journal of Experimental Medicine, 2010. **207**(13): p. 2781-2784.

Serment de Galien



Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

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

قسم الصيدلي



بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

» أن أرافق الله في مهنتي

» أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعليمهم.

» أن أزأول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.

» أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.

» أن لا أفشى الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوفق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.

» لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحترم من طرف زملائي إن أنا لم أُف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



جامعة محمد الخامس - الرباط
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 132

سنة : 2017

متلازمة برنارد سولبيير معطيات جديدة

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

السيد: يونس بوقيسبي

المزداد في: 29 مارس 1991 بجروسيف

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: متلازمة برنارد سولبيير – وضمور الخثرة النزفية الخلقية – المركب البروتيني V-Ib-IX.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيسة	السيدة: منى نزيه أستاذة في علم الدم البيولوجي
مشرف	السيد: عز العرب مسرار أستاذ في علم الدم البيولوجي
أعضاء	{ السيد: عبد الله دامي أستاذ في الكيمياء الحيوية السيدة: سعاد بنكيران أستاذة في علم الدم البيولوجي