

UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE DE LILLE 2

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année de soutenance : 2017

N°:

THESE POUR LE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le 09 Novembre 2017

Par Jérôme TURPIN

Né le 29 Mai 1991 à Roubaix – FRANCE

**Au cœur de l'hémostase primaire :
Réactualisation des connaissances**

JURY

Président : Monsieur le Professeur Guillaume PENEL

Assesseurs : Monsieur le Docteur Laurent NAWROCKI

Madame le Docteur Cécile OLEJNIK

Madame le Docteur Coralie LACHERETZ

ACADEMIE DE LILLE

UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE LILLE 2

~*~*~*~*~*~*~*~*~*

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

PLACE DE VERDUN

59000 LILLE

~*~*~*~*~*~*~*~*~*

Président de l'Université	:	X. VANDENDRIESSCHE
Directeur Général des Services	:	P-M. ROBERT
Doyen	:	Pr. E. DEVEAUX
Vice Doyens	:	Dr. E. BOCQUET, Dr. L. NAWROCKI et Pr. G. PENEL
Responsables des Services	:	S. NEDELEC
Chef des Services Administratifs	:	L. LECOCQ

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'U.F.R.

PROFESSEURS DES UNIVERSITES :

P. BEHIN	Prothèses
T. COLARD	Sciences Anatomiques et Physiologiques Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysiques, Radiologie
E. DELCOURT-DEBRUYNE	Professeur Emérite Parodontologie
E. DEVEAUX	Odontologie Conservatrice – Endodontie Doyen de la Faculté
G. PENEL	Responsable de la Sous-Section des Sciences Biologiques

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

T. BECAVIN	Responsable de la Sous-Section d'Odontologie Conservatrice-Endodontie
A. BLAIZOT	Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale
F. BOSCHIN Parodontologie	Responsable de la Sous-Section de
E. BOCQUET	Responsable de la Sous-Section d'Orthopédie Dento-Faciale
C. CATTEAU	Responsable de la Sous-Section de Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale
A. CLAISSE	Odontologie Conservatrice-Endodontie
M. DANGLETERRE	Sciences Biologiques
De BROUCKER	Sciences Anatomiques et Physiologiques, Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysiques, Radiologie
T. DELCAMBRE	Prothèses
C. DELFOSSE	Odontologie Pédiatrique
F. DESCAMP	Prothèses
A. GAMBIEZ	Odontologie Conservatrice-Endodontie
F. GRAUX	Prothèses
P. HILDELBERT	Odontologie Conservatrice-Endodontie
J.M. LANGLOIS	Responsable de la Sous-Section de Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique, Anesthésiologie et Réanimation
C. LEFEVRE	Prothèses
J.L. LEGER	Orthopédie Dento-Faciale
M. LINEZ	Odontologie Conservatrice-Endodontie
G. MAYER	Prothèses
L. NAWROCKI	Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique Anesthésiologie et Réanimation Chef du Service d'Odontologie A. Caumartin-CHRU Lille
C. OLEJNIK	Sciences Biologiques

P. ROCHER	Sciences Anatomiques et Physiologiques, Occlusodontiques,Biomatériaux,Biophysiques, Radiologie
M. SAVIGNAT	Responsable de la Sous-Section des Sciences Anatomiques et Physiologiques, Occlusodontiques,Biomatériaux,Biophysiques, Radiologie
T. TRENTESAUX	Odontologie Pédiatrique
J. VANDOMME	Responsable de la Sous-Section de Prothèses

Réglementation de présentation du mémoire de Thèse

Par délibération en date du 29 octobre 1998, le Conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire de l'Université de Lille 2 a décidé que les opinions émises dans le contenu et les dédicaces des mémoires soutenus devant jury doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'ainsi aucune approbation, ni improbation ne leur est donnée.

Remerciements

Aux membres du jury...

Monsieur le Professeur Guillaume PENEL

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Sous-Section Sciences Biologiques

Docteur en Chirurgie Dentaire

Doctorat de l'Université René DESCARTES (PARIS V)

C.E.S d'Odontologie Chirurgicale

Habilité à Diriger des Recherches

Vice- Doyen Recherche de la Faculté de Chirurgie Dentaire

Responsable de la Sous-Section Sciences Biologiques

Je vous remercie d'avoir accepté la présidence de ce jury.

*Votre gentillesse, votre enthousiasme et votre disponibilité m'ont touché.
Veuillez recevoir, Professeur Penel, mon plus grand respect et toute ma
gratitude.*

Monsieur le Docteur Laurent NAWROCKI

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD

Sous-Section Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique, Anesthésiologie et Réanimation

Docteur en Chirurgie Dentaire

Doctorat de l'Université de Lille 2 (mention Odontologie)

Maîtrise en Biologie Humaine

C.E.S d'Odontologie Chirurgicale

Coordonnateur Adjoint du D.E.S de Chirurgie Orale

Secrétaire du Collège Hospitalo-Universitaire de Médecine Buccale et Chirurgie Buccale

Vice Doyen Relations Intérieures et Extérieures de la Faculté de Chirurgie Dentaire
Chef du Service d'Odontologie du Centre Abel Caumartin – CHRU de LILLE

Vous me faites l'honneur d'être membre de ce jury.

Vous avez réussi à susciter ma curiosité quant à la pharmacologie et l'hémostase grâce à votre enseignement durant toutes ses années.

Veuillez accepter, Docteur Nawrocki, ma reconnaissance la plus profonde.

Madame le Docteur Cécile OLEJNIK

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD
Sous-Section Sciences Biologiques

Docteur en Chirurgie Dentaire
Doctorat de l'Université de Lille 2 (mention Odontologie)

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Votre gentillesse en clinique est reconnue de tous.

Ce fut un réel plaisir de travailler aux urgences à vos côtés.

Veillez recevoir, Docteur Olejnik, toute ma sympathie.

Madame le Docteur Coralie LACHERETZ

Assistante Hospitalo-Universitaire des CSERD

Sous-Section Chirurgie Buccale

Docteur en Chirurgie Dentaire

Master I Biologie Santé : Histopathologie des tissus osseux et dentaires

Master II Biologie Santé : Biomatériaux

C.E.S Odontologie Chirurgicale mention Médecine Buccale – Lille2

C.E.S Odontologie Chirurgicale mention Odontologie Chirurgicale – Lille2

Pour avoir accepté la direction de cette thèse avec enthousiasme.

Pour votre disponibilité, vos conseils et votre efficacité durant les corrections.

J'ai pris un réel plaisir à réaliser cette thèse sous votre direction.

Je vous souhaite, Docteur Lacheretz, le meilleur pour l'avenir.

À ma famille...

TABLE DES MATIERES

ABBREVIATIONS.....	13
INTRODUCTION.....	16
1. LES PLAQUETTES	18
1.1. GENERALITES.....	18
1.1.1. L'hémostase.....	18
1.1.2. Historique.....	18
1.1.3. Lignée cellulaire.....	18
1.1.4. Le mégacaryocyte.....	20
1.1.5. Endomitose mégacaryocytaire.....	21
1.2. FONDAMENTAUX DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE	23
1.2.1. Les vaisseaux sanguins	23
1.2.2. Les plaquettes.....	25
1.2.3. Le facteur Von Willebrand.....	27
2. PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE	29
2.1. LES CONSTITUANTS PLAQUETTAIRES	29
2.1.1. La bicouche phospholipidique.....	29
2.1.2. Le glycocalyx.....	31
2.1.3. Le système canaliculaire ouvert.....	33
2.1.4. Le cytosquelette.....	34
2.1.5. Les filaments d'actine et la myosine.....	35
2.2. LES ORGANELLES.....	39
2.2.1. Les granules α	39
2.2.2. Les corps denses	41
2.3. FORMATION DU THROMBUS PLAQUETTAIRE	42
2.3.1. Le temps vasculaire	42
2.3.3. Les cascades d'activation plaquettaire	45
2.3.4. Le complexe GPIb-IX-V.....	46
2.3.5. Le complexe GPVI	54
2.3.6. Les P2YR(s).....	58
2.3.7. Les PAR(s)	66
2.3.8. L'intégrine GPIIb-IIIa	72
2.3.9. L'agrégation plaquettaire.....	78
2.4. LES INHIBITEURS PLAQUETTAIRES	80
2.4.1. L'oxyde nitrique.....	80

2.4.2. La prostacycline.....	82
3. APPLICATIONS PRATIQUES.....	85
3.1. APPLICATIONS CLINIQUES.....	85
3.1.1. Les patients à risque hémorragique.....	85
3.1.2. Exploration de l'hémostase.....	87
3.1.3. Les actes à risque hémorragique	89
3.1.4. La conduite à tenir.....	90
DISCUSSION.....	92
CONCLUSION	93
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	95
TABLE DES ILLUSTRATIONS	102

ABBREVIATIONS

AAP	: Antiagrégant plaquettaire
AC	: Adénylate cyclase
Aco	: Anticoagulant
Actine G	: Actine globulaire
Actine F	: Actine polymérisée
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AMPC	: Adénosine monophosphate cyclique
ATP	: Adénosine triphosphate
ADP	: Adénosine 5' diphosphate
BLOC	: Biogenesis of lysosome-related organelle complexes
CD39	: Nucléoside triphosphate diphosphohydrolase 1
CFUGEMM	: Colony-forming-unit-granulocyte-erythroid-macrophage-megakaryocyte
COX-1	: Cyclo-oxygénase 1
DDED	: Acide aspartique acide aspartique acide glutamique acide aspartique
DMS	: Système membranaire dense
EGF	: Facteur de croissance épidermique
FcR γ	: Chaîne γ du récepteur aux immunoglobulines Fc
FWW	: Facteur von Willebrand
Fyn	: Tyrosine kinase
GP	: Glycoprotéine

GP1Ib-IIIa	: Glycoprotéine IIb-IIIa
GTP	: Guanosine triphosphate
GDP	: Guanosine diphosphate
ITAM	: Immunotyrosine-based activation motif
LAT	: Linker for activation of T-cells
Lyn	: Tyrosine kinase
MEC	: Matrice extra-cellulaire
NACO	: Nouveaux anticoagulants oraux
NRPP	: Asparagine Arginine Proline Proline
NXXY	: Asparagine X X Tyrosine
PAR	: Récepteur activé par des protéases
P2Y	: Récepteur purinergique couplé à la protéine G
PC	: Phosphatidylcholine
PE	: Phosphatidyléthanolamine
PI	: Phosphatidylinositol
PLC	: Phospholipase C
PLCγ2	: Phospholipase Cy2
PS	: Phosphatidylsérine
PSI	: Complexe sémaphorine plexine des intégrines
RCPG	: Récepteur couplé à la protéine G
RE	: Réticulum endoplasmique
RGD	: Arginine Glycine Acide aspartique
RRL	: Région riche en leucine
SCO	: Système canaliculaire ouvert

SFCO	: Société Française de Chirurgie Orale
SFLLRN	: Sérine Phénylalanine Leucine Leucine Arginine Asparagine
SNARE	: Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor attachment protein receptor
SNAP23	: Synaptosomal-associated protein 23
SRC	: Tyrosine kinase
TXA2	: Thromboxane A2
UTP	: Uridine triphosphate
VAMP3	: Protéine membranaire 3 associée aux vésicules
SPH	: Sphingomyéline

INTRODUCTION

L'hémostase est une défense essentielle de notre organisme face aux agressions de notre environnement. Celle-ci représente l'ensemble des phénomènes physiologiques nécessaires au maintien de l'intégrité des vaisseaux sanguins ainsi qu'à l'arrêt d'un saignement lorsqu'un vaisseau se trouve lésé.

L'hémostase primaire est la première phase de ce processus complexe aboutissant à l'élaboration d'un thrombus blanc encore appelé le clou plaquettaire. Ce thrombus permet de stopper temporairement l'incident hémorragique au sein des vaisseaux.

Les plaquettes sont les principales cellules de l'hémostase primaire. Celles-ci sont recrutées au niveau des sites lésés et interagissent avec les protéines du tissu vasculaire. Les plaquettes subissent différentes étapes que sont l'adhésion, l'activation et l'agrégation afin d'aboutir à la formation du clou plaquettaire. Ces étapes sont médiées par l'interaction des protéines du tissu vasculaire avec les récepteurs plaquettaires. Ces récepteurs sont ancrés dans la membrane plasmique des plaquettes et permettent d'initier de façon séquentielle toutes les phases aboutissant au clou plaquettaire.

L'hémostase primaire représente également un processus à la base de nombreuses pathologies affectant l'homéostasie vasculaire. L'activation inadéquate de l'hémostase peut aboutir à des événements thrombo-emboliques délétères pour les patients tandis que l'absence de ce processus engendre des hémorragies majeures lors de la réalisation d'actes chirurgicaux ou en cas de blessures.

La constitution, la fonction ainsi que les mécanismes d'activation de ces récepteurs sont le fruit d'une recherche intense dont l'objectif principal est de créer des molécules pharmacologiques capables d'inhiber l'agrégation plaquettaire ou bien de l'activer.

Cette thèse représente une mise à jour des connaissances des mécanismes de l'hémostase primaire ainsi qu'une ouverture sur les médicaments en cours d'essais cliniques.

Les références bibliographiques françaises et anglophones citées proviennent des sites internet Pubmed ou encore EM Consulte (EMC).

Au sein du cabinet dentaire le chirurgien-dentiste est confronté quotidiennement aux saignements durant la réalisation de ses actes médicaux. La gestion du saignement nécessite une prise en charge adaptée et personnalisée pour chaque patient. L'anamnèse permet au chirurgien-dentiste de connaître les antécédents médicaux du patient et d'adapter son geste chirurgical selon les recommandations en vigueur.

La Société Française de Chirurgie Orale (SFCO) met à jour les recommandations permettant la prise en charge des patients en fonction de leur pathologie et de la prise médicamenteuse associée. Ces recommandations permettent de réaliser un acte chirurgical de façon optimale tout en minimisant le risque hémorragique du patient. Toutes ces données sont disponibles gratuitement sur le site internet de la SFCO.

Cette thèse est divisée en trois axes majeurs. La première partie replace les plaquettes dans un contexte général permettant d'appréhender leur fonctionnement ainsi que leurs fonctions au cours de l'hémostase. La seconde partie se concentre principalement sur la biologie cellulaire des plaquettes ainsi que sur les cascades biochimiques à l'origine de l'hémostase primaire. Elle regroupe également pour chaque cascade les nouveaux médicaments en cours d'essais cliniques ainsi que les médicaments en cours d'utilisation. Finalement la troisième partie présente les applications pratiques au sein du cabinet ainsi que les dernières recommandations pour la prise en charge optimale des patients à risque hémorragiques par le chirurgien-dentiste.

1. LES PLAQUETTES

1.1. GENERALITES

1.1.1. L'hémostase

L'hémostase représente un ensemble de processus physiologiques permettant de conserver l'intégrité des vaisseaux sanguins. L'objectif principal de ces processus est de stopper les saignements. L'hémostase primaire est à l'origine de la formation d'un clou plaquettaire encore appelé thrombus formé par les **plaquettes**.(1)

L'hémostase secondaire, quant à elle, est à l'origine du processus de coagulation initié par les facteurs de la coagulation. Elle fait suite à l'hémostase primaire et aboutit à la production de fibrine permettant de créer et de stabiliser le caillot sanguin. Celui-ci recrute des protéines capables d'initier la réparation tissulaire. Lorsque le vaisseau retrouve sa structure d'origine le caillot sanguin est détruit par fibrinolyse.

Les fonctions primaires des plaquettes sont de maintenir l'intégrité des vaisseaux sanguins et de contribuer au processus de la coagulation sanguine.(1)

1.1.2. Historique

Les plaquettes sanguines furent décrites pour la première fois par Giulio Bizzozero à la fin du XIXème siècle. Ce médecin est considéré comme l'un des pionniers de l'histologie italienne.(2) Les plaquettes sont également connues sous le nom de **thrombocytes**.

1.1.3. Lignée cellulaire

Toutes les cellules sanguines se développent à partir de **cellules souches** qui résident, chez l'adulte, majoritairement dans la **moelle osseuse**. Les cellules souches perdent progressivement leur potentiel de différenciation et deviennent des cellules spécialisées au cours du temps.(3)

Les cellules souches sanguines ont la capacité d'engendrer deux lignées cellulaires : La lignée myéloïde et la lignée lymphoïde. Les **mégacaryocytes**, qui produisent les plaquettes, proviennent de la lignée myéloïde.(3) La cellule précurseur de la lignée myéloïde est la **Colony forming unit granulocyte erythroid macrophage megakaryocyte** [CFU-GEMM].

Les CFU-GEMM présentent la particularité de pouvoir engendrer différentes lignées cellulaires :(4)

- Les granulocytes
- Les érythrocytes
- Les mégacaryocytes
- Les monocytes

La différenciation des cellules souches pluripotentes est régulée par la sécrétion de la thrombopoïétine (TPO) par le foie et le rein. La TPO est un facteur de croissance capable de lier le récepteur c-Mpl à activité tyrosine kinase. Ce récepteur est retrouvé sur les progéniteurs pluripotents, sur les progéniteurs des mégacaryoblastes et sur les plaquettes.(5)

Les plaquettes des mammifères dérivent du cytoplasme des mégacaryocytes qui sont les seules cellules hématopoïétiques **polyploïdes** du corps humain.(6) Ces cellules sont caractérisées par la présence de plus de deux lots de chromosomes.

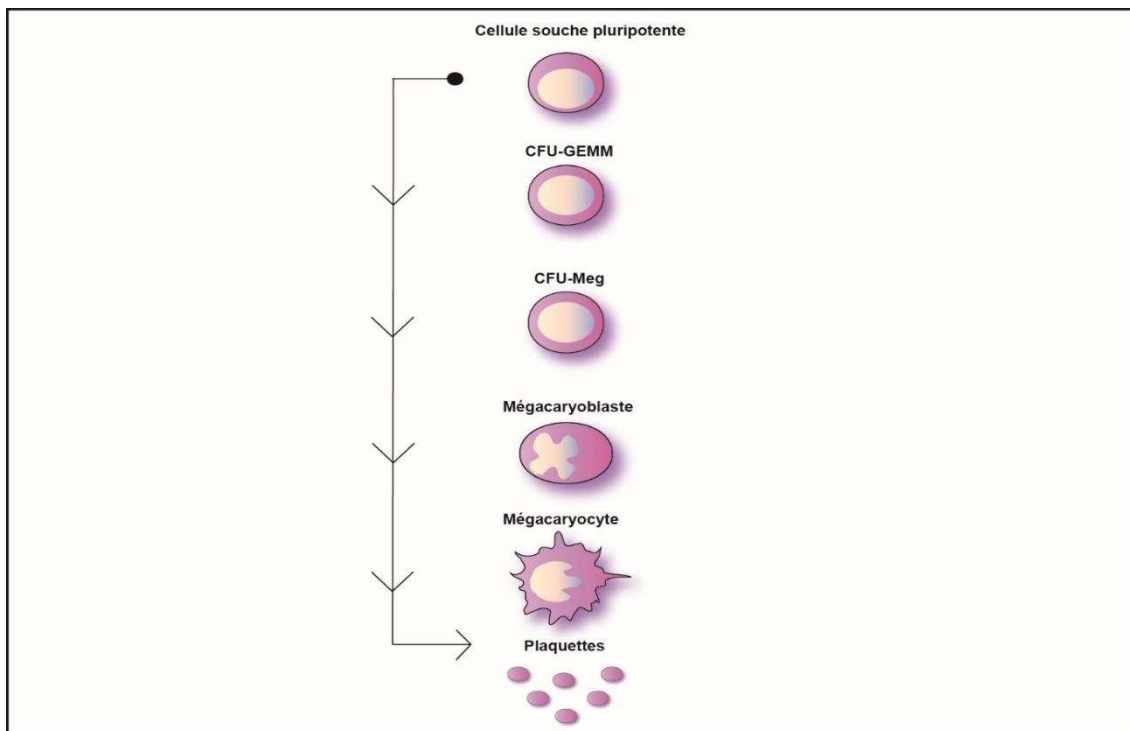


Figure 1: Schéma de la lignée cellulaire plaquettaire. CFU-GEMM: Colony forming unit granulocyte erythroid macrophage megakaryocyte; CFU-Meg: Colony forming unit megakaryocyte. (Iconographie personnelle).

1.1.4. Le mégacaryocyte

Les mégacaryocytes sont des cellules spécialisées issues de la moelle osseuse.(7) Les mégacaryocytes subissent différentes phases de maturation avant d'aboutir à une cellule géante prête à produire de nombreuses plaquettes.(8)

Cette maturation est caractérisée par différents processus que sont :

- La formation intra-cytoplasmique du Système de Démarcation Membranaire (DMS) à l'origine du futur cytoplasme des plaquettes,
- La formation des compartiments intra-cellulaires à l'origine des précurseurs plaquettaires,
- L'accumulation des corps denses,
- L'accumulation des **granules α** au sein du cytoplasme.(9)

Un mégacaryocyte plaquettaire engendre l'émission de pseudopodes contenant des plaquettes.

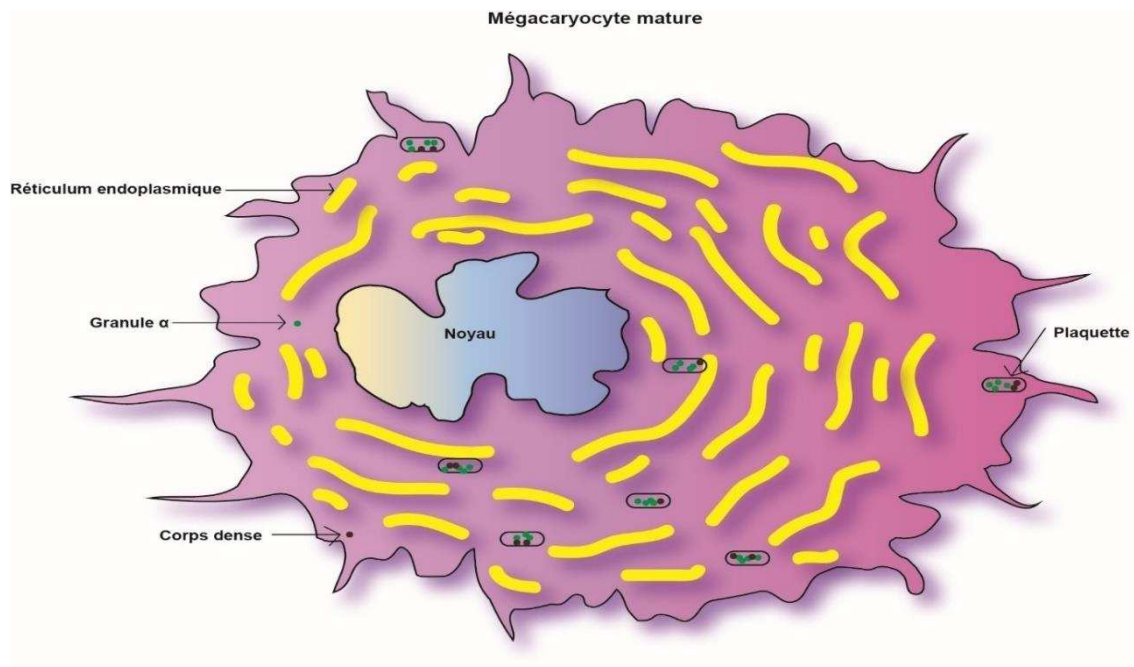


Figure 2: Schéma d'un mégacaryocyte. (Iconographie personnelle).

1.1.5. Endomitose mégacaryocytaire

Les mégacaryocytes présentent la particularité d'être polyploïdes. La polyploïdie est définie comme la réplication répétée de l'acide désoxyribonucléique [ADN] au sein d'une cellule sans division cellulaire.(10)

De ce fait le nombre de paires de chromosomes passent de $2n$ à $4n$ $8n$ $16n$ $32n$ $64n$ sans aucune division cellulaire. La majorité des mégacaryocytes possède $16n$. La polyploïdisation engendre un phénomène d'amplification génique permettant également d'accroître la synthèse des protéines et d'élargir la cellule tout en augmentant le nombre de paires de chromosomes dans celle-ci.(6)

Des études récentes montrent que l'endomitose n'est pas la résultante d'une absence de mitose mais plutôt un avortement prématuré du cycle mitotique.(11)

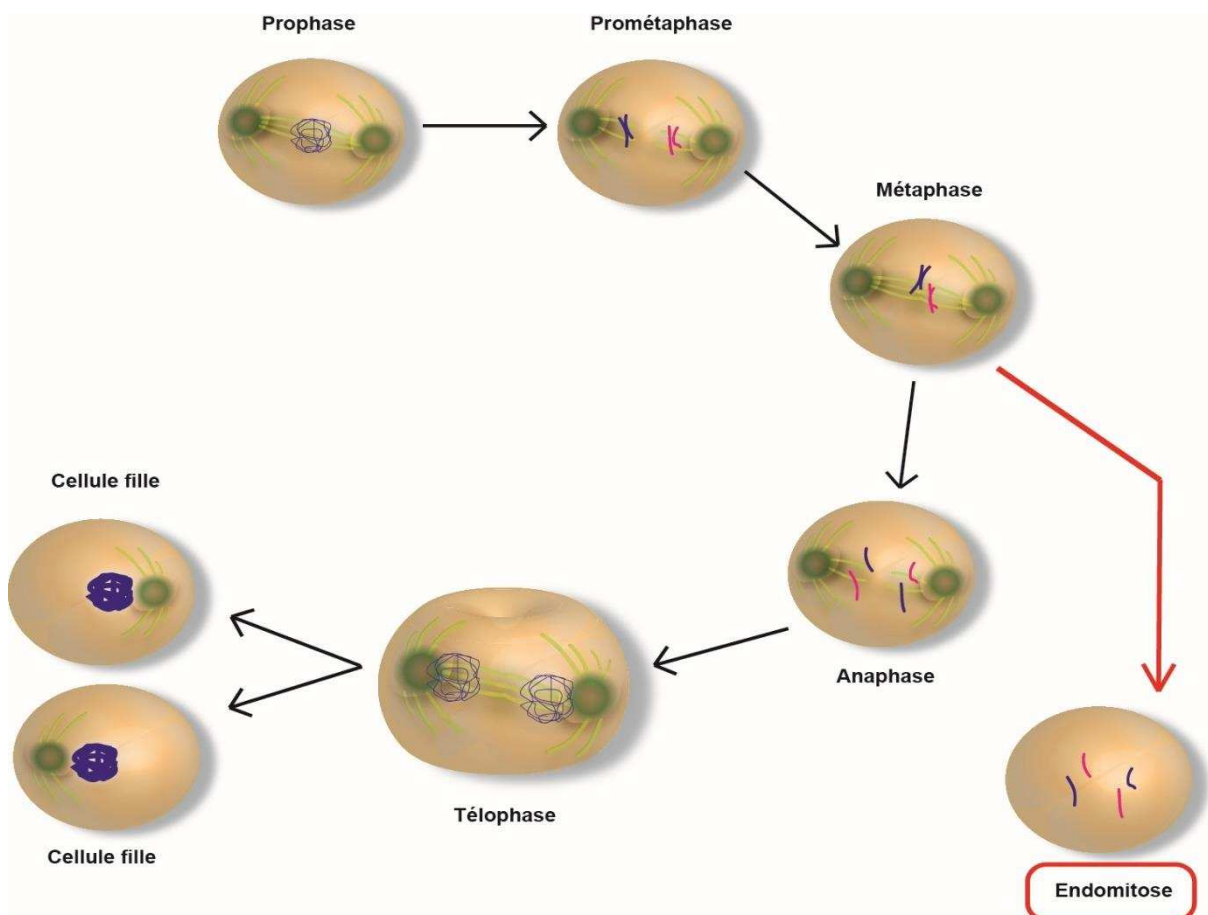


Figure 3: Schéma de l'endomitose. (Iconographie personnelle).

Au cours de l'endomitose le cycle cellulaire se retrouve inhibé durant l'anaphase : Les chromatides sont prêtes à se séparer et à se déplacer vers les pôles. Cependant cette séparation des pôles n'a pas lieu.

La cellule inhibe :

- L'anaphase
- La télophase
- La cytotéière

Cette inhibition empêche le noyau de former une enveloppe autour de chaque paire de chromosome et de se séparer pour aboutir à la formation de deux cellules filles.(11)

Les mégacaryocytes sont ainsi capables de déréguler l'essence même du cycle cellulaire afin de produire de nombreuses plaquettes à partir d'une unique cellule.

1.2. FONDAMENTAUX DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE

1.2.1. Les vaisseaux sanguins

L'étude histologique des vaisseaux sanguins permet de décomposer un vaisseau en trois couches structurelles concentriques distinctes :

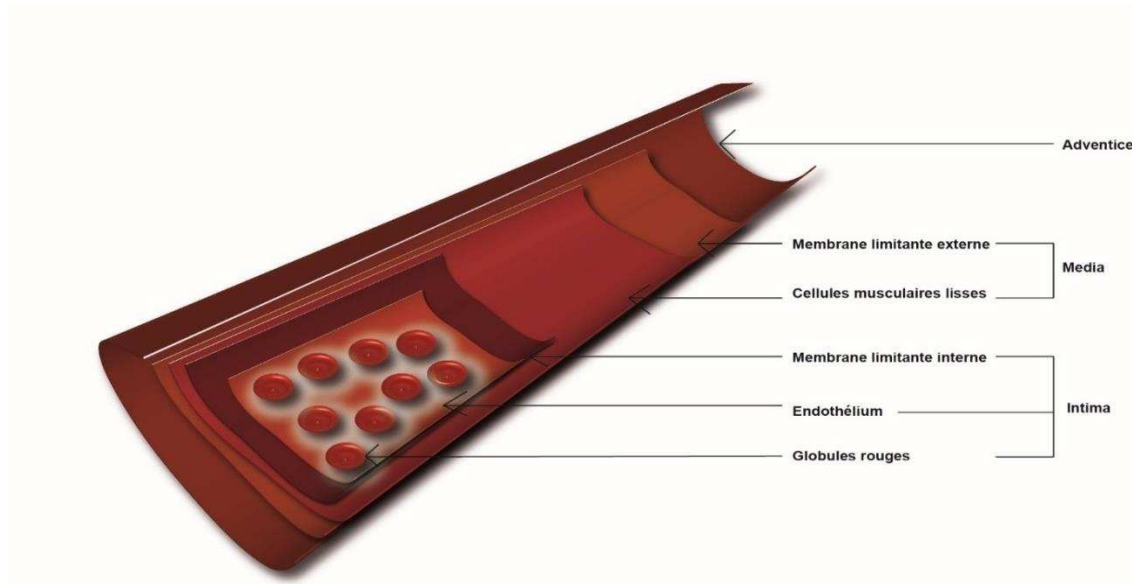


Figure 4: *Vue schématique d'un vaisseau sanguin en coupe.* Iconographie personnelle.

- L'intima (couche interne) : Elle se compose d'une unique couche de cellules endothéliales faisant directement face au flux sanguin. Cette première couche cellulaire s'appelle l'endothélium.(12)
- La media (couche intermédiaire) : Elle recouvre l'intima. La composition de cette couche cellulaire varie en fonction du diamètre du vaisseau étudié.
 - Dans les capillaires la media est composée de péricytes,
 - Dans les vaisseaux de plus gros calibre elle est composée de cellules musculaires lisses.

La media permet de moduler le diamètre du vaisseau dans le but de modifier le flux et la pression sanguine.(12)

- L'adventice (couche externe) : Elle est composée d'un tissu conjonctif ainsi que de fibres musculaires et permet de réaliser la transition entre le vaisseaux et les tissus environnants.(12)

Deux structures en feuille de papier permettent de connecter l'intima à la media et la media à l'adventice respectivement : la membrane limitante interne et la membrane limitante externe.(12)

La membrane basale du sous-endothélium ou membrane limitante interne est entourée par le tissu conjonctif de l'intima et les cellules musculaires de la media. Elle contient différentes molécules permettant d'aboutir à l'initiation de l'hémostase en cas de lésion du vaisseau.

Ces molécules sont :

- Les collagènes de type IV, VX et VXIII,
- La laminine,
- Le nidogène,
- Le facteur Von Willebrand (FVW).

1.2.2. Les plaquettes

Les thrombocytes ou plaquettes sont les cellules de l'hémostase primaire. Nous retrouvons en moyenne dans le corps humain plus de cent milliards de plaquettes ! La numération plaquettaire normale oscille entre 150 000 et 400 000 unité par mm^3 chez l'Homme. La durée de vie d'une plaquette varie entre 8 et 12 jours.(13)

Les plaquettes sont des cellules discoïdes anucléées d'environ 2 à $3\mu\text{m}$ de diamètre et d'une épaisseur avoisinant les $0,5\mu\text{m}$.(14)

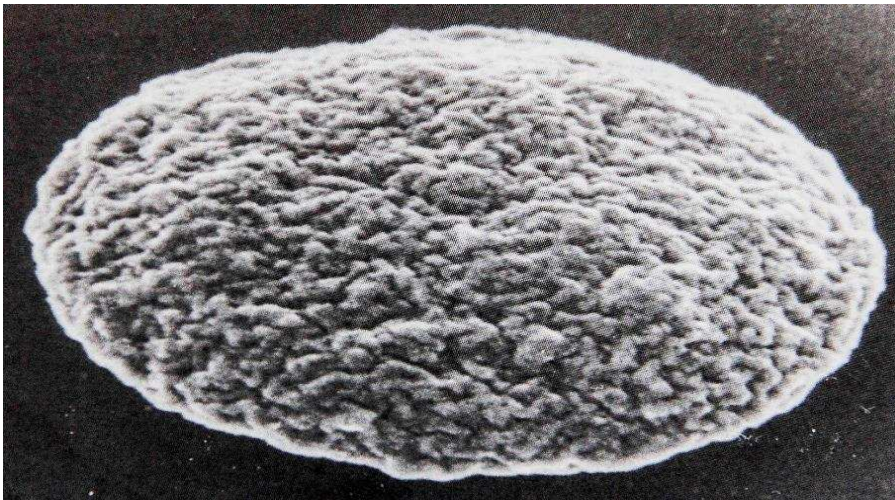


Figure 5: Plaquette discoïde en microscopie électronique à haute résolution (15).

Les fonctions primaires des plaquettes sont :

- Réaliser un thrombus permettant d'arrêter les hémorragies,
- Maintenir l'intégrité des vaisseaux sanguins.

Dans les conditions physiologiques, les plaquettes circulent dans les vaisseaux dans un état de repos : elles sont dites inactives. Ces plaquettes sont caractérisées par leur forme discoïde dans le sang circulant.

En revanche lorsque les vaisseaux sanguins sont lésés les thrombocytes sont activés afin de réaliser un thrombus permettant de stopper l'hémorragie. Ces plaquettes sont caractérisées par la perte de leur forme discoïde en s'étalant et en émettant des pseudopodes vers les plaquettes voisines.(13)

Seule une fraction des plaquettes est utilisée dans le processus hémostatique. En effet $2/3$ des plaquettes sont retrouvées dans le sang circulant et $1/3$ sont stockées et éliminées dans la rate et le foie par un processus phagocytaire.(16)

Les processus impliquant les plaquettes dans l'hémostase primaire sont nombreux et complexes. En effet il existe une multitude de cascades biologiques, biochimiques, biocellulaires ainsi que différentes voies d'activation aboutissant à la formation du clou plaquettaire au niveau d'un vaisseau lésé.(16)

Ces processus sont médiés par différents acteurs :

- Les récepteurs membranaires plaquettaires,
- Les glycoprotéines des vaisseaux sanguins,
- Les protéines circulantes,
- Les cascades biochimiques intra-cellulaires.

1.2.3. Le facteur Von Willebrand

Le facteur Von Willebrand (FVW) est une glycoprotéine plasmatique multimérique permettant de recruter les plaquettes sur le site d'une lésion vasculaire ainsi que de transporter le facteur VIII.(17)

Cette protéine est synthétisée par plusieurs cellules :

- Les cellules endothéliales synthétisent le FVW sous la forme de monomères dans le Golgi. La dimérisation du FVW s'effectue dans le réticulum endoplasmique (RE) pour ensuite être stocké dans les corps de Weibel-Palade,(18)
- Les mégacaryocytes synthétisent également le FVW tandis que le stockage se fera dans les granules α des futures plaquettes.

Le FVW est la protéine possédant le plus fort potentiel hémostatique dans la circulation sanguine. Son activité au sein du sang circulant est modulée par les forces hydrodynamiques mises en jeu dans les vaisseaux.(19)

Au sein d'un flux sanguin physiologique le FVW circule sous sa forme inactive dont la caractéristique principale est de présenter une faible affinité pour les plaquettes.(19)

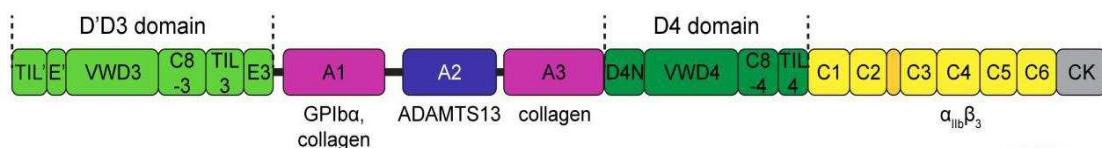


Figure 6: Structure schématique du facteur Von Willebrand (20).

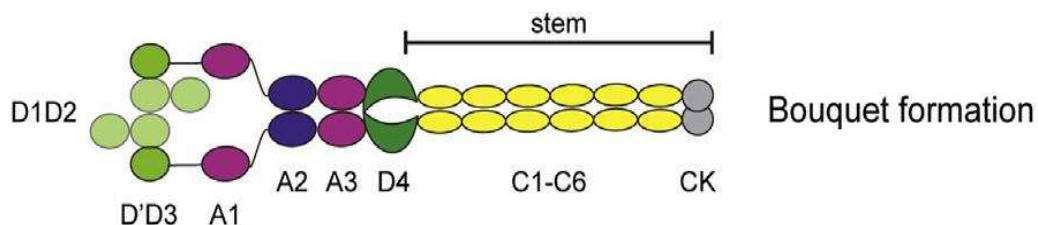


Figure 7: Structure Dimérisée du facteur Von Willebrand (20).

Les domaines A1 et A3 permettent au FVW de se lier :

- Aux collagènes de la matrice extra-cellulaire endothéliales (MEC),
- A la partie N-terminale GPIIb du récepteur plaquettaire GPIIb-IX-V.(19)

Les domaines A1 et C4 permettent au FVW de lier l'intégrine plaquettaire α IIb β 3.
(19)

Au cours d'une lésion vasculaire il existe une augmentation des forces hydrodynamiques qui engendre l'activation du FVW. L'augmentation de son affinité pour les plaquettes est conditionnée par l'exposition de ses différents domaines.

Le FVW circule dans des conditions physiologiques sous un état inactif. Il est caractérisé par une conformation globuleuse dans le flux sanguin masquant ainsi ces différents domaines d'adhésion.

Le domaine D4 du FVW semble jouer un rôle prépondérant dans cette conformation bien que les interactions moléculaires ne soient pas totalement élucidées.

Lors d'une lésion vasculaire le FVW adhère aux collagènes présents dans le sous-endothélium. La conformation du FVW varie grâce à la modulation de l'écoulement du flux sanguin. Cette modification aboutit à l'exposition du domaine A1 permettant l'adhésion du FVW aux récepteurs GPIIb des plaquettes.

Les cellules endothéliales synthétisent le FVW sous une forme de très haut poids moléculaire (200 000kDa). Lors de sa sécrétion dans la circulation sanguine celui-ci va adhérer à la P-sélectine membranaire des cellules endothéliales et réaliser de longues structures filamenteuses exposant son domaine A2 à la métalloprotéase ADAMTS13 (A disintegrin and métalloprotéase with thrombospondin type 1 repeats).

L'ADAMTS13 va pouvoir cliver le domaine A2 du FVW réduisant ainsi la taille du multimère pour faciliter sa protéolyse. Ce clivage permet de moduler l'activité du FVW au sein de la circulation sanguine. (17)

2. PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE

2.1. LES CONSTITUANTS PLAQUETTAIRES

2.1.1. La bicouche phospholipidique

Les thrombocytes sont constitués d'une membrane phospholipidique permettant la séparation des milieux intra-cellulaires et extra-cellulaires. Cependant cette membrane n'est plus uniquement perçue comme une séparation statique mais comme une unité dynamique d'échanges entre le thrombocyte et le milieu extra-cellulaire.(21)

A l'état de repos les thrombocytes présentent une bicouche phospholipidique caractérisée par une répartition asymétrique de ses composants entre les feuillets lipidiques externes et internes.(21)

Le feuillet externe faisant face au milieu extra-cellulaire est composé de :

- Phosphatidylcholines (PC),
- Sphingomyélines (SPH),
- Glycolipides,
- Cholestérols.

Le feuillet interne en regard du cytoplasme est composé de :

- Phosphatidylsérines (PS),
- Phosphatidyléthanolamines (PE),
- Phosphatidylinositols (PI),
- Phosphoinositides,
- Cholestérols.

Le cholestérol est une molécule clé permettant de fluidifier et de maintenir l'intégrité de la membrane plasmique.(22)

Cette asymétrie est assurée par différentes enzymes capables de catalyser une réaction de translocation des phospholipides d'un feuillet à l'autre. La translocation membranaire est définie comme étant le passage d'un feuillet à l'autre d'un phospholipide au sein de la membrane.

➤ Les flippases et les floppases

Ce sont des enzymes ATPasiques assurant le transport unidirectionnel d'un phospholipide contre son gradient de concentration d'un feuillet à l'autre au sein de la membrane plasmique.(21)

La fonction ATPasique est définie comme étant l'utilisation d'une molécule énergétique telle que l'ATP (adénosine triphosphate) afin de catalyser une réaction enzymatique.

- La flippase transporte les phospholipides vers le feuillet externe,
- La floppase transporte les phospholipides vers le feuillet interne.

➤ La scramblase

Elle permet de réaliser la translocation de la PS du feuillet interne vers le feuillet externe. Cette enzyme est caractérisée par un fonctionnement indépendant de l'ATP mais dépendant de la concentration intra-cellulaire en calcium.(21)

Lors de l'activation plaquettaire la concentration intra-cytoplasmique du calcium augmente fortement et a pour conséquences :

- L'activation de la scramblase,
- L'inhibitions des translocases telles que les flippases et les floppases.

Les PS sont caractérisées par :

- Une charge totale anionique,
- Une activité procoagulante.

Ainsi les PS permettent de fixer différentes enzymes impliquées dans la cascade de coagulation afin d'aboutir à la formation d'un réseau de fibrine. (37)

2.1.2. Le glycocalyx

Le glycocalyx est un ensemble de glycoprotéines recouvrant la membrane plasmique des thrombocytes. C'est une structure dynamique permettant d'initier les réponses des thrombocytes face aux lésions vasculaires.(14)

Ces réponses sont traduites par :

- L'adhésion plaquettaire sur le vaisseau lésé,
- L'activation plaquettaire,
- L'agrégation plaquettaire,
- L'accélération de la formation du clou plaquettaire.

Les principaux récepteurs de l'hémostase primaire sont localisés dans le glycocalyx tels que :

- La famille des intégrines,
- La famille des protéines à répétition riche en leucine,
- Les récepteurs à sept domaines transmembranaires,
- Les récepteurs lipidiques,
- La superfamille des immunoglobulines,
- La famille des récepteurs à la lectine de type C,
- La famille des récepteurs tyrosine kinase,
- Les protéines ancrées au glycosyle phosphatidylinositol.

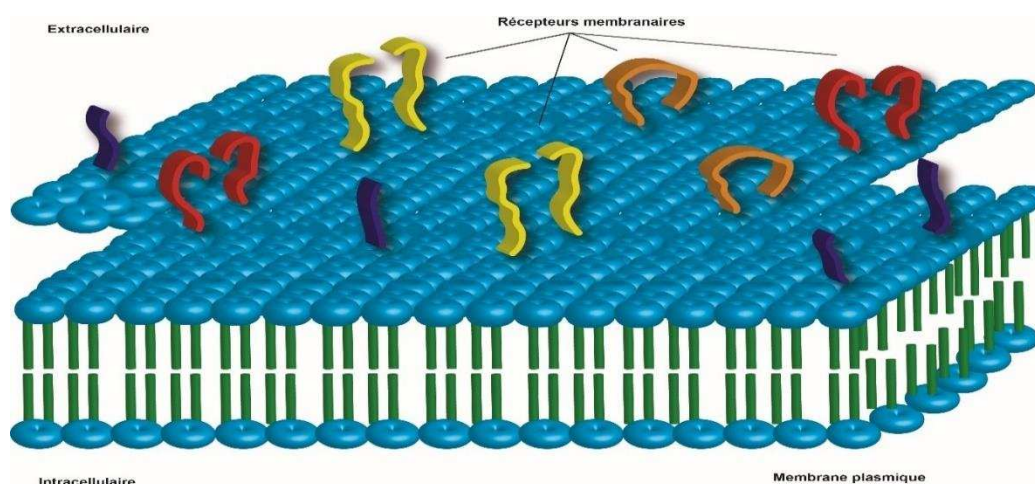


Figure 8: Schéma du glycocalyx plaquettaire. (Iconographie personnelle).

Les récepteurs les plus représentés dans la membrane plasmique sont les GPIIb-IIIa et les GPIb-IX-V pour respectivement 80 000 et 25 000 unités, en moyenne, par thrombocyte.(14)

Ces récepteurs sont mobiles et jouent un rôle fondamental dans le processus de l'hémostase primaire.

Nous retrouvons également tous ces récepteurs au sein du système canaliculaire ouvert des thrombocytes.

2.1.3. Le système canaliculaire ouvert

Le système canaliculaire ouvert (SCO) est une structure cellulaire spécifique des thrombocytes humains. En effet cette structure n'est pas exprimée dans de nombreuses espèces animales. (23)

➤ Rôles du SCO

Le SCO réalise des invaginations membranaires intra-cytoplasmiques permettant d'augmenter la surface de contact cellulaire avec le plasma et améliorer la libération du contenu granulaire en réponse à une lésion vasculaire.(23)

Ces invaginations permettent ainsi d'améliorer le transport de molécules plasmatiques telles que le fibrinogène vers des régions plus internes de la cellule à proximité des granules.

Au cours de l'activation plaquettaire la cellule change sa conformation passant d'une forme discoïdale vers une cellule émettant des pseudopodes. Le SCO permet d'augmenter de 420% la surface totale de la cellule au cours de l'activation. Cette augmentation utilise au maximum les capacités des plaquettes afin de recouvrir une zone lésée.(24)

Différentes protéines sont localisées au niveau de SCO telles que :

- La protéine SNARE (soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor attachment protein receptor),
- La syntaxine,
- SNAP23 (Synaptosomal-associated protein 23),
- VAMP3 (Vesicle-associated membrane protein 3).

Ces protéines favorisent la sécrétion du contenu granulaire grâce à la fusion des granules sur la membrane plasmique du thrombocyte.(23)

2.1.4. Le cytosquelette

Le cytosquelette influence directement la conformation plaquettaire au sein de la circulation sanguine.

Les plaquettes peuvent se retrouver sous deux formes :

- Inactive discoïdale,
- Active sous la forme de pseudopodes.

Le cytosquelette plaquettaire est directement relié à la membrane plasmique par plusieurs protéines telles que :

- La spectrine,
- Les filaments d'actine,
- Les microtubules.

➤ La spectrine :

C'est une protéine impliquée dans le maintien de l'intégrité de la membrane plasmique et du cytosquelette.

Les spectrines sont constituées de deux sous-unités :

- La spectrine α ,
- La spectrine β .

Ces sous-unités sont associées sous la forme d'un hétérodimère antiparallèle permettant de se lier à d'autres sous-unités de spectrine. La forme finale de la protéine est un tétramère dont les extrémités terminales sont reliées à l'actine par leur site spécifique de liaison à celle-ci.(25)

La liaison aux filaments d'actine est facilitée par l'adducine. Cette protéine fixe les sites terminaux des spectrines et augmente l'affinité de la liaison aux filaments d'actine. Elle permet également d'inhiber la croissance des filaments d'actine.(26)

La spectrine est une protéine cytoplasmique localisée sous la membrane plasmique. Elle joue le rôle d'échafaudage pour le cytosquelette plaquettaire. La spectrine est la protéine responsable de la forme de disque biconcave des érythrocytes.

2.1.5. Les filaments d'actine et la myosine

Le complexe actine/myosine joue un rôle fondamental dans le maintien de l'intégrité des plaquettes. Au sein d'une plaquette inactive l'association de molécules d'actine forme des filaments d'actine permettant de lier la membrane plasmique au cytosquelette plaquettaire.(27)

Cependant seulement la moitié de la concentration totale en actine est polymérisée en filaments. En effet, l'autre moitié sert de matrice dans le but de stabiliser les organelles.

Au cours de l'activation plaquettaire les molécules d'actine engendrent une constriction des microtubules circonférentiels. Cette constriction exerce une force centripète sur les granules afin de faciliter leur sécrétion dans le cadre d'une stimulation assez forte au travers du SCO.(28)

De plus cette protéine est à l'origine du changement conformationnel des thrombocytes lors de l'activation plaquettaire à travers une remodelisation totale du cytosquelette.

➤ L'actine :

L'actine est une protéine de 42-KDa exprimée dans toutes les cellules eucaryotes. Cette protéine se retrouve dans le cytoplasme sous deux formes :

- L'actine globulaire (Actine-G) sous forme de monomères non polymérisés,
- L'actine fibrillaire (Actine-F) polymérisée.

A l'état de repos les thrombocytes présentent 50% de l'actine sous sa forme polymérisée. Au cours de l'activation plaquettaire les thrombocytes changent de forme et plus de 70% de l'actine se trouve à l'état polymérisé après stimulation par la thrombine.(27,29)

Il existe 6 isotypes d'actine :

- L'actine α sous trois isoformes,
- L'actine β sous deux isoformes,
- L'actine γ sous une isoforme.

- L'actine α est localisée au sein des cellules musculaires striées,
- L'actine β est localisée dans la majorité des types cellulaires et intervient dans la formation du cytosquelette ainsi que dans les déplacements cellulaires,
- L'actine γ est localisée dans le cytoplasmes des cellules non musculaires.

Deux isoformes sont exprimées au sein des plaquettes :

- L'actine β
- L'actine γ

Les filaments d'actine sont recouverts par un complexe protéique type Arp2/3 initiant la polymérisation des filaments d'actine à partir de l'actine globulaire. (30–32) Une protéine d'actine présente plusieurs sites de liaison :

- Des sites de liaisons aux autres molécules d'actine,
- Un site de liaison à l'ATP/ADP,
- Différents sites de liaison pour d'autres protéines.

Il existe un équilibre constant entre des protéines inhibitrices et activatrices de la polymérisation des filaments d'actine. (27)

- La myosine IIA

Elle représente le moteur permettant d'activer les filaments d'actine. La myosine fait partie d'une superfamille contenant 17 classes différentes. (28) La myosine IIA est la plus abondante des protéines au sein des plaquettes. C'est une myosine non musculaire qui présente :

- Une extrémité C-terminale constituée d'une longue hélice α ,
- Une extrémité N-terminale globulaire dite motrice,
- Un domaine cervical flexible capable d'armer la tête globulaire

Deux chaînes lourdes sont associées entre-elles tandis que le domaine cervical est associé aux chaînes légères régulatrices et essentielles : (28)

- Les chaînes légères régulatrices s'associent aux chaînes lourdes afin de réguler l'activité catalytique de la myosine en N-terminal de la myosine,
- Les chaînes légères essentielles stabilisent la myosine.

L'association des chaînes lourdes et légères engendre la formation d'un hexamère capable d'hydrolyser l'ATP en ADP au niveau de son domaine catalytique à l'extrémité N-terminale.(28)

➤ Mécanisme de fonctionnement du complexe actine/myosine IIA

❖ La phase 1 :

L'ATP se lie à la tête globulaire de la myosine IIA et s'éloigne du filament d'actine.

❖ La phase 2 :

L'ATP est hydrolysée par le domaine catalytique de la tête globulaire en ADP et en P_i . Cette hydrolyse arme la tête globulaire qui se fixe à une molécule d'actine.

❖ La phase 3 :

La molécule de P_i est éliminée de la tête globulaire. Ceci engendre le relâchement de la tête globulaire fixée à l'actine. Un déplacement du filament se produit.

❖ La phase 4 :

La molécule d'ADP restante est éliminée de la tête globulaire. Celle-ci fixe alors une molécule d'ATP et recommence son cycle.

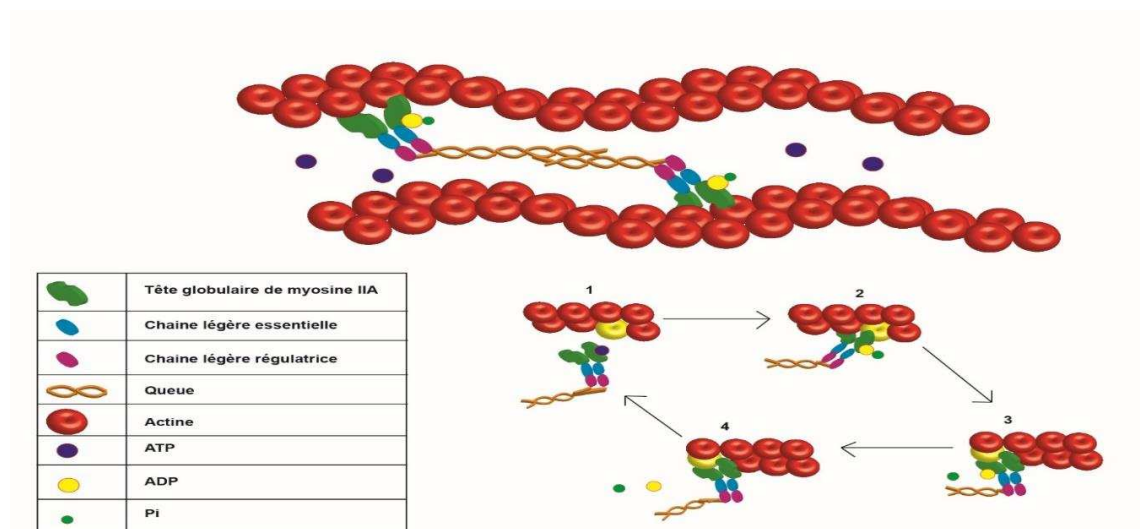


Figure 9: Schéma de l'activité actine/myosine IIA. ADP : Adénosine diphosphate ; ATP : Adénosine triphosphate ; P_i : Phosphate inorganique. (Iconographie personnelle).

2.1.6. Les microtubules

Les microtubules représentent une unité fondamentale du cytosquelette plaquettaire. En effet les plaquettes au repos présentent une forme discoïdale. Cette forme est maintenue grâce à un faisceau marginal composé de microtubules.(31)

Les microtubules sont des hétérodimères formés à partir de deux sous-unités :

- La tubuline α
- La tubuline β

Ces sous unités polymérisent entre elles afin de construire des protofilaments. Habituellement les microtubules polymérisent à partir du centriole cependant cette unité structurelle n'existe pas dans les plaquettes. Les plaquettes disposent d'un microtubule d'environ 100 μ m ainsi que d'autres microtubules plus courts répartis dans le cytoplasme. Leur rôle est de créer un point de nucléation à partir duquel les sous-unités vont pouvoir polymériser ensemble et augmenter la taille du microtubule.

Au sein d'une plaquette à l'état de repos il existe 50% de la tubuline sous forme polymérisée. La polymérisation débute dans l'anneau périphérique qu'est la bande marginale.(28)

La formation d'un tube est engendrée par la liaison polaire de 13 protofilaments. Ce tube creux présente la particularité de posséder deux extrémités à croissance différentielle :

- Une sous-unité α sur la partie (-)
- Une sous-unité β sur la partie (+)

La partie (+) présente une affinité majorée pour la tubuline dimérique et la croissance est plus rapide sur celle-ci.



Figure 10: Schéma des microtubules polymérisés. (Iconographie personnelle).

2.2. LES ORGANELLES

2.2.1. Les granules α

Les granules α sont les organelles les plus abondants au sein des plaquettes. De forme circulaire ou ovoïde, les granules α mesurent de 200 à 500 nm. Il existe en moyenne 50 à 80 granules par plaquette. (33)

Le contenu des granules α trouve son origine au cours de la formation des plaquettes par les mégacaryocytes. Deux voies permettent d'accumuler les protéines des plaquettes dans les granules :

➤ La synthèse des protéines

La synthèse des protéines au sein des mégacaryocytes permet l'accumulation et l'acheminement des protéines vers des granules immatures en passant du réticulum endoplasmique vers le réseau transgolgien. Ces protéines seront alors stockées dans des granules immatures.(33)

➤ L'endocytose des protéines

L'endocytose est un mécanisme cellulaire permettant d'internaliser des protéines plasmatiques grâce à la formation de vésicules issues de la membrane plasmique.

Ces deux voies aboutissent à la formation de corps multivésiculaires qui sont des structures transitoires dont la maturation aboutit à la formation des granules.(14)

Les granules α stockent :

- Des protéines associées à la membrane,
- Des protéines solubles.

Les protéines solubles se retrouvent dans le milieu extra-cellulaire lors de la sécrétion des granules tandis que les protéines associées à la membrane sont dispersées dans la membrane plaquettaire.(34)

Lors de l'activation plaquettaire les granules sont sécrétés à travers la membrane par un processus de fusion membranaire. Cette fusion est régulée par l'activité de protéines type vSNARE favorisant la fusion des membranes.

Les protéines stockées dans les granules α présentent des fonctions diverses (tab. 1). (34)

Familles des protéines	Exemples
Les protéines membranaires	α IIb β 3, GPIb-IX-V, GPVI, Selectine-P
Les protéines coagulantes	Les facteurs V, IX, XIII
Les protéines anticoagulantes	L'inhibiteur du facteur tissulaire, l'antithrombine, la protéine S
Les protéines fibrinolytiques	Le plasminogène, l' α 2-macroglobuline
Les protéines d'adhésion	Le FVW, le fibrinogène, la thrombospondine
Les facteurs de croissance	EGF, IGF, HGF, TGF β
Les facteurs angiogéniques	VEGF, PDGF, FGF
Les facteurs antiangiogéniques	L'angiostatine, l'endostatine
Les protéines chimiotactiques Les protéines bactéricides Les médiateurs de l'immunité	CXCL1, les précurseurs C3 et C4 du complément, la thymosine β 4

Tableau 1: Tableau récapitulatif des *protéines stockées au sein d'un granule α* . EGF: Epithelial growth factor, IGF: Insulin-like growth factor, HGF: Hepatocyte growth factor, TGF β : *Tumoral growth factor β* , VEGF: *Vascular endothelial growth factor*, PDGF: Platelet derived growth factor, FGF: Fibroblast growth factor, FWV: Von Willebrand Factor.

2.2.2. Les corps denses

Les corps denses ou granules δ sont des organelles dérivées du lysosome. Ils proviennent de la voie des endosomes tardifs contrairement aux granules α .

➤ La voie endosomale

Elle est caractérisée par la formation de corps multivésiculaires provenant du lysosome. Les corps denses sont formés au sein du mégacaryocyte et deviennent, avant leur maturation, des corps multivésiculaires.(34)

La formation et la maturation des corps denses est sous tendue par l'expression d'une protéine ubiquitaire : La Biogenesis of lysosome-related organelle complexes (BLOC). Cette protéine joue un rôle majeur en agissant sur le trafic cellulaire des vésicules aboutissant à la formation des corps denses.(34)

➤ La composition du corps dense

Les corps denses présentent une concentration élevée en molécules telles que :

- L'ATP,
- L'ADP,
- La guanosine diphosphate (GDP),
- L'uridine triphosphate (UTP),
- La sérotonine,
- L'histamine,
- Des pyrophosphates,
- Des cations : Calcium – Potassium.

Le corps dense maintient un milieu acide au Ph de 5,4 grâce à l'action d'une pompe à proton dépendante de l'ATP.(34)

De plus les corps denses possèdent également des protéines membranaires telles que la GPIb ou encore l'intégrine $\alpha 2\beta 3$.(34)

2.3. FORMATION DU THROMBUS PLAQUETTAIRE

2.3.1. Le temps vasculaire

Le temps vasculaire est la première phase de l'hémostase primaire. La lésion du vaisseau engendre une vasoconstriction spontanée diminuant le flux sanguin et facilitant l'accumulation locale des plaquettes et des facteurs de la coagulation.

➤ Mécanisme de la vasoconstriction

Cette vasoconstriction est engendrée par la contraction des cellules musculaires lisses provenant de la media. Ce mécanisme réflexe est régulé par le système nerveux sympathique. La noradrénaline est libérée au niveau des fibres post-ganglionnaires et se lie aux récepteurs α_1 couplés aux protéines G des cellules musculaires lisses vasculaires. Cette fixation engendre l'activation d'une protéine Gq activant la phospholipase $C\gamma_2$ (PLC γ_2).

➤ Cascade biochimique

La PLC γ_2 catalyse la réaction de conversion du phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP $_2$) de la membrane plasmique en inositol 1,4,5-triphosphate (IP $_3$) ainsi qu'en 1,2-diacylglycérol (DAG).

L'IP $_3$ se retrouve dans le cytoplasme et agit en tant que messenger secondaire.

L'IP $_3$ va ensuite se lier à son récepteur localisé sur le réticulum endoplasmique. Ce récepteur est un canal calcique engendrant la sortie massive d'ions Ca^{2+} du RE vers le cytosol. Les ions Ca^{2+} fixent alors la calmoduline qui engendre l'activation de la kinase des chaînes légères de myosine (KCLM). La phosphorylation de la CLM entraîne la contraction des cellules musculaires lisses vasculaires et par conséquent la vasoconstriction.

Cet effet est d'autant plus efficace que le diamètre du vaisseau est petit.(37) La lésion vasculaire active également les nocicepteurs et engendre la libération de calcium et de sérotonine amplifiant ainsi la vasoconstriction.(38)

Cette vasoconstriction peut durer 20 à 30 minutes mais elle n'est pas suffisante pour stopper une hémorragie. La circulation sanguine produit une contrainte de cisaillement dont la force est maximale à proximité des parois vasculaires et minimale au centre du vaisseau. Cette contrainte joue un rôle fondamental pour l'adhésion plaquettaire en cas de lésion d'un vaisseau.(38)

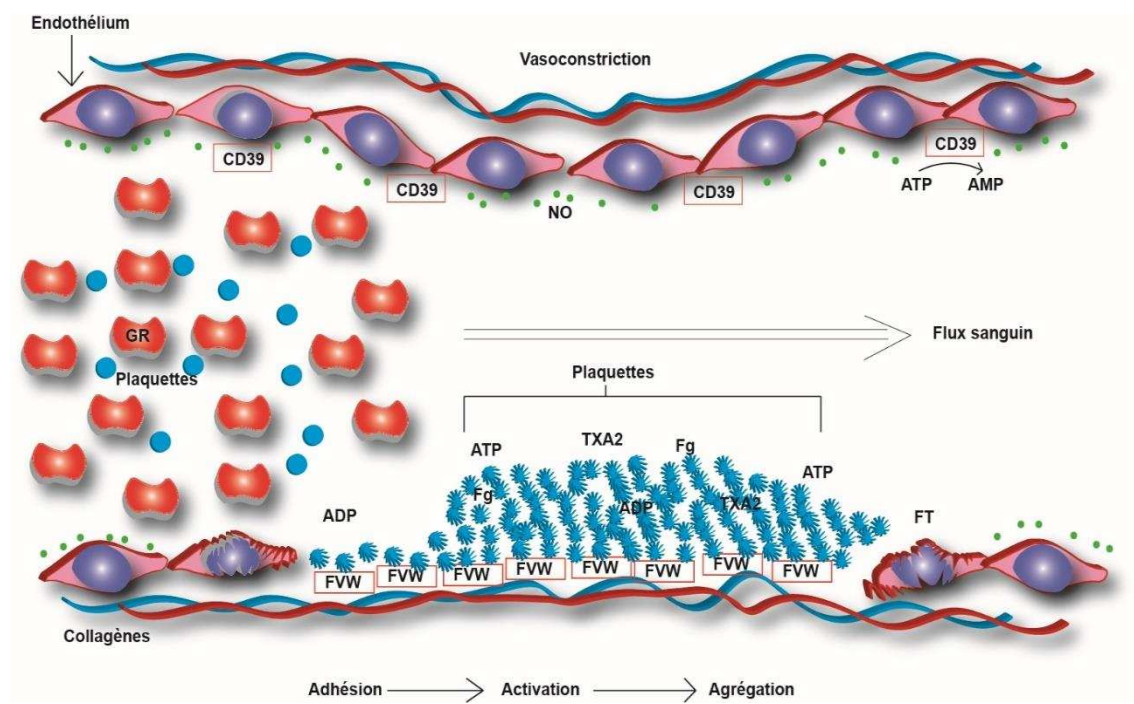


Figure 11: *Schéma représentant les temps de l'hémostase primaire.* ATP : Adénosine Triphosphate ; ADP : Adénosine 5' diphosphate ; AMP : Adénosine monophosphate ; NO : Oxyde nitrique ; vWF : Facteur Von Willebrand ; TXA2 : Thromboxane A2 ; Fg : Fibrinogène ; FT : Facteur tissulaire ; CD39 : Diphosphohydrolase. (Iconographie personnelle).

2.3.2. L'adhésion plaquettaire

Le sous-endothélium du vaisseau est mis à nu lors d'une lésion d'un vaisseau et se retrouve exposé au flux sanguin. Les plaquettes établissent de multiples liaisons aux FVW grâce à leurs récepteurs membranaires tandis que les FVW sont soutenus par les fibres de collagènes du tissu sous-endothélial. Le récepteur du FVW est la glycoprotéine transmembranaire IX-V (GPIb-IX-V). De ce fait le récepteur GPIb-IX-V est un récepteur indirect du collagène par l'intermédiaire du FVW.(1)

Les FVW contenus dans le plasma vont également se lier aux collagènes du sous-endothélium et favoriser ainsi l'adhésion plaquettaire en ralentissant le mouvement des plaquettes au cœur du flux sanguin.(39)

➤ La liaison du FVW à la GPIb-IX-V

L'augmentation de la contrainte de cisaillement permet au FVW ainsi qu'au récepteur GPIb-IX-V d'effectuer un changement conformationnel permettant l'adhésion plaquettaire.(40)

La liaison du FVW engendre deux phénomènes cruciaux pour le récepteur transmembranaire GPIb-IX-V :

- L'augmentation de l'affinité du récepteur pour son ligand par modification conformationnelle,
- L'activation d'une cascade biochimique intra-cellulaire.

Cependant la liaison entre la GPIb-IX-V et le FVW est une liaison transitoire ne permettant pas de maintenir l'adhésion plaquettaire dans le temps.

➤ Les autres mécanismes d'adhésion

Pour cela il est nécessaire d'activer d'autres récepteurs dont l'intégrine $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$, la P-sélectine, la glycoprotéine transmembranaire VI (GPVI) ou encore les cadhérines.(41)

D'autre part les collagènes de type I et III exposés lors d'une lésion vasculaire permettent la fixation de la glycoprotéine transmembranaire $\text{GP}\alpha\text{2}\beta\text{1}$ (GPIa-IIa) dont l'affinité augmente suite à la fixation de la GPVI au collagène du sous-endothélium.

2.3.3. Les cascades d'activation plaquettaire

L'activation plaquettaire joue un rôle fondamental dans l'hémostase primaire. Les données actuelles de la science permettent de diviser cette activation en plusieurs étapes : (40)

- La signalisation précoce médiée par des récepteurs d'adhésion cellulaire,
- La convergence des voies d'activation intra-cellulaires,
- L'activation intra-cellulaire des récepteurs d'adhésion,
- L'activation extra-cellulaire des récepteurs d'adhésion,
- L'amplification de l'activation plaquettaire.

➤ Les protéines de l'activation

Les agonistes de l'activation plaquettaire regroupent :

- Le collagène,
- La thrombine,
- L'adénosine diphosphate (ADP),
- Le Thromboxane A2 (TxA2),
- Le FVW.

Ces voies d'activation mettent en jeu différentes cascades moléculaires telles que :

- Les récepteurs couplés à la protéine G (RCPG),
- L'intégrine $\alpha\text{IIb}\beta_3$,
- La voie des phosphoinositides 3-kinases (PI3-K).

Toutes ces molécules vont permettre d'activer les kinases intra-cellulaires jouant un rôle dans le changement conformationnel des plaquettes.(39)

2.3.4. Le complexe GPIb-IX-V

Le récepteur GPIb-IX-V est un complexe glycoprotéique exclusivement exprimé au sein des plaquettes et des mégacaryocytes. Il représente le deuxième récepteur le plus abondant des plaquettes après la glycoprotéine GPIIb-IIIa.(42)

➤ Le rôle du complexe GPIb-IX-V

Ce récepteur a été mis en évidence chez les patients porteurs du Syndrome de Bernard-Soulier. Ce syndrome est caractérisé par un trouble de l'agrégation plaquettaire causé par l'absence du complexe GPIb-IX-V.(42)

Le premier rôle de cette glycoprotéine est de se lier au facteur Von Willebrand, lui-même lié au collagène, exposé à la circulation sanguine lors d'une lésion du tissu vasculaire. Cependant ce récepteur est également capable de fixer d'autres protéines à fonction activatrice des plaquettes ou des protéines de la coagulation telles que :(43)

- La thrombine,
- La sélectine P,
- Le facteur XI,
- Le facteur XII,
- Le kininogène.

➤ La structure du complexe

Le complexe GPIb-IX-V est composé de quatre sous-unités. Ces sous-unités sont toutes des protéines transmembranaires de type I. Une protéine transmembranaire de type I est décrite comme possédant :(42)

- Un domaine extra-cellulaire N-terminal de liaison au ligand,
- Une unique hélice transmembranaire,
- Un domaine intra-cellulaire C-terminal à activité catalytique.

La particularité des sous-unités du complexe GPIb-IX-V est la présence, sur chaque partie N-terminale, d'une répétition riche en leucine (RRL).

Le récepteur GPIb-IX-V présente :(43)

- Une sous-unité GPIb α ,
- Deux sous-unités GPIb β ,
- Une sous-unité GPIX,
- Une sous-unité GPV.

➤ La sous-unité GPIb α

Elle possède à elle seule tous les sites de fixation des ligands extra-cellulaires.
La structure cristallographique de cette sous-unité permet de mettre en évidence : (fig13)

- Un pont disulfure sur la région N-terminale,
- Sept répétitions riches en leucine sur la région N-terminale,
- Deux ponts disulfures sur la région C-terminale,
- Des séquences riches en résidus acides,
- Un macroglycopeptide,
- Deux résidus cystéiques permettant la jonction à la GPIb β ,
- Une région transmembranaire,
- Une queue intra-cytoplasmique liant la filamine et la PI3-K.

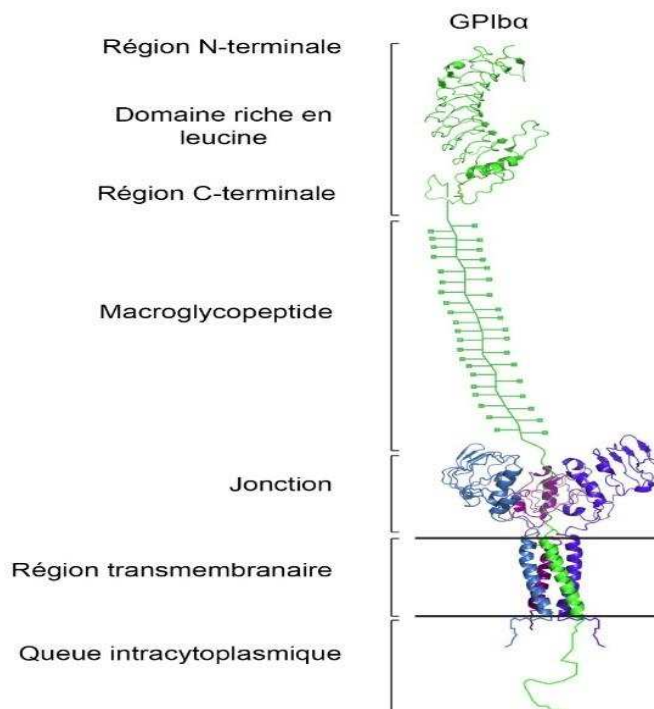


Figure 12: Diagramme en ruban de la sous-unité GPIb α (42).

➤ La sous-unité GPIb β

C'est une glycoprotéine hétérodimérique de 181 acides aminés associée au complexe GPIb-IX-V à travers un pont disulfure avec la GPIb α .

Cette protéine présente sur sa partie extra-cellulaire :

- Une chaîne α de 140 kDa,
- Une chaîne β de 22 kDa,
- Deux ponts disulfures,
- Une région riche en leucines,
- Un pont disulfure formé à partir du résidu cystéique 122.

Cette protéine présente sur sa partie intra-cellulaire :

- Un site de phosphorylation sur la Sérine 166,
- Un site de liaison à la calmoduline,
- Un site de liaison au facteur 4 associé au récepteur TNF.

La région riche en leucine est coiffée par les extrémités N et C terminales maintenant la structure de la protéine par deux ponts disulfures (fig 12).(42)

La GPIb β contribue à l'expression du complexe GPIb-IX-V à la surface des plaquettes et permet également d'activer des voies de signalisations intracellulaires par phosphorylation de la sérine 166 grâce à la protéine 14-3-3 ζ .(44)

La calmoduline permettrait également de moduler l'expression du complexe sur la surface plaquettaire cependant son rôle n'est, de nos jours, pas entièrement défini.(44)

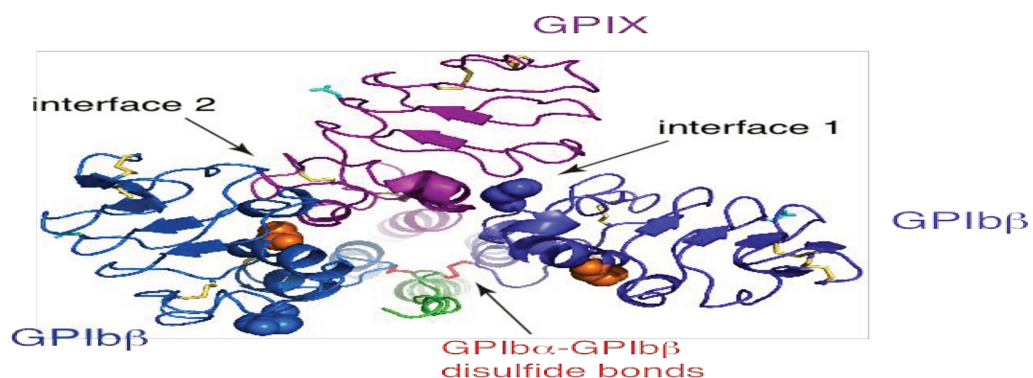


Figure 13: Diagramme en ruban en vue supérieure du complexe GPIb-IX (42).

➤ La sous-unité GPIX

C'est une glycoprotéine transmembranaire de type I exprimée à la surface des plaquettes. Elle s'associe à la GPIIb β de façon non-covalente afin de former le complexe GPIIb-IX-V.(45)

La GPIX présente un domaine extra-cellulaire similaire à celle de la GPIIb β cependant les parties membranaires et intra-cellulaires sont différentes.

Cette protéine présente sur sa partie extra-cellulaire :

- Une région riche en leucine,
- Deux ponts disulfures.

Cette protéine présente sur sa partie intra-cellulaire :

- Une queue intra-cytoplasmique courte.

La queue intra-cytoplasmique de la GPIX ne semble pas interagir avec les protéines intra-cellulaires. Celle-ci est courte par rapport aux autres glycoprotéines du complexe avec seulement 8 résidus intra-cytoplasmiques.(42)

La liaison de la GPIX à la GPIIb β reste incertaine cependant nous savons que ces liaisons ont lieu aux niveaux extra-cellulaire et transmembranaire de façon non covalentes.(42)

➤ La sous-unité GPV

C'est une glycoprotéine transmembranaire de type I faiblement associée au complexe GPIb-IX-V.(42)

Son domaine extra-cellulaire présente :

- Treize régions riches en leucines,
- Deux ponts disulfures.

Son domaine intra-cellulaire présente :

- Une queue intra-cytoplasmique courte,
- Des résidus basiques.

La région riche en leucine est coiffée par les régions N et C terminales maintenant la structure de la protéine par deux ponts disulfures. La liaison au complexe se fait par la portion membranaire de la GPV grâce à la sous-unité GPIb α .(43)

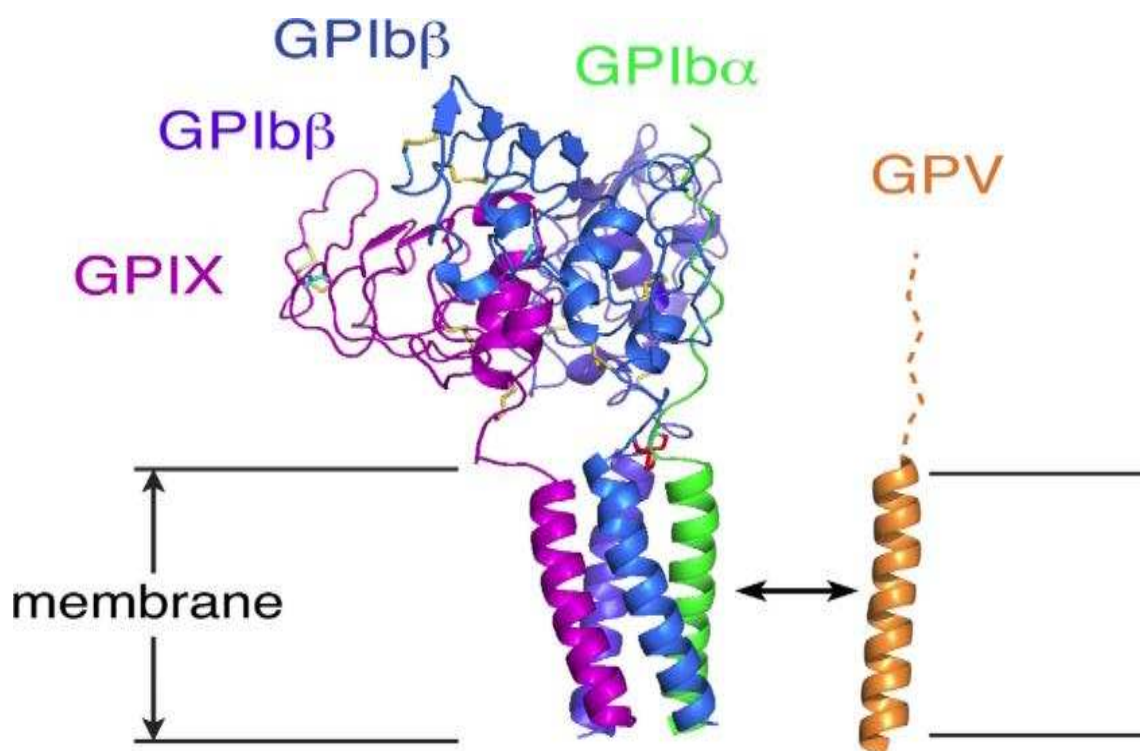


Figure 14: Diagramme en ruban du complexe GPIb-IX-V (42).

Les cascades biochimiques sont médiées par de nombreuses kinases. Les kinases sont des enzymes capables de phosphoryler certaines protéines sur leur résidus sérine, thréonine ou tyrosine possédant une fonction hydroxyle (OH).(46)

L'activation de la GPIIb-IX-V nécessite la fixation de la protéine 14-3-3 ζ sur la sous-unité GPIIb cytoplasmique. Cette protéine permet de réguler l'activité de nombreuses molécules de signalisation par phosphorylation de leur résidu sérine.(40)

Les cascades d'activation de la GPIIb-IX-V doivent être précisées. En effet selon les dernières données acquises de la science, l'activation de ce récepteur engendre deux phénomènes majeurs :

- L'augmentation de la concentration en calcium (Ca^{2+}) intra-cellulaire
- L'activation dite « inside-out » du récepteur GPIIb-IIIa

L'augmentation de la concentration calcique est médiée par différentes enzymes telles que :

- La famille des Src kinases que sont les protéines tyrosines kinases cytoplasmiques (PTK) comprenant les kinases Fyn et Lyn,
- La tyrosine kinase Syk (Spleen Tyrosine Kinase),
- La phospholipase $\text{C}\gamma 2$ (PLC $\gamma 2$)(47).

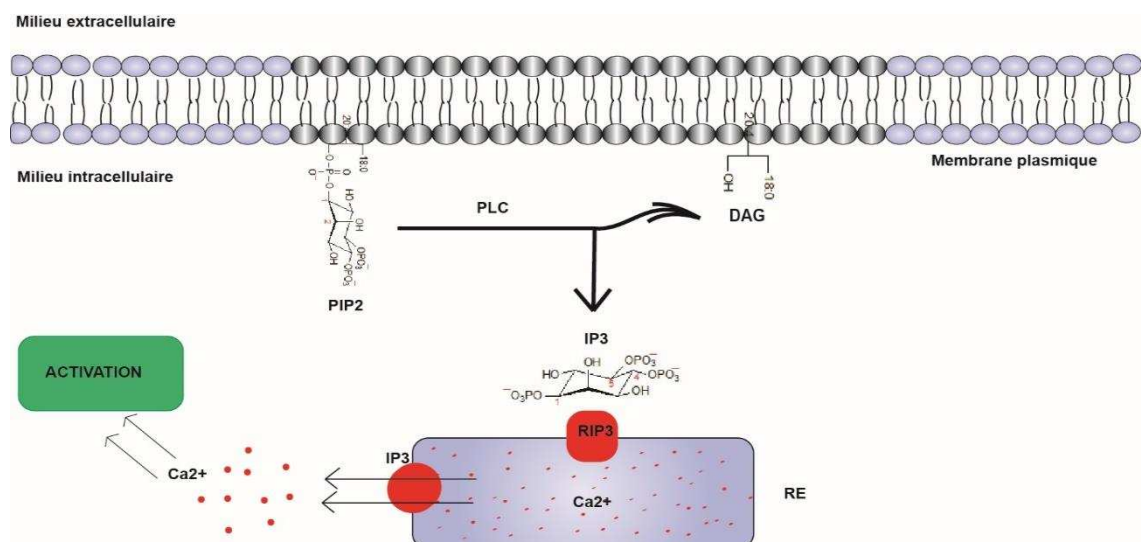


Figure 15: Schéma du *mécanisme d'activation* du signal calcique. PLC : Phospholipase C ; PIP2 : phosphatidylinositol 4-5 biphosphate ; IP3 : inositol 1,4,5-triphosphate ; DAG : Diacylglycérol ; RIP3 : *Récepteur canal de l'IP3* ; RE : Réticulum endoplasmique. (Iconographie personnelle).

➤ L'activation du récepteur

La GPIb-IX-V engendre le recrutement des Src kinases Fyn et Lyn qui recrutent à leur tour la tyrosine kinase Syk. Cette kinase aboutit, par un jeu de phosphorylation, à l'activation de la PLC γ 2.(47)

➤ La cascade biochimique

La PLC γ 2 catalyse la réaction de conversion du phosphatidylinositol 4-5 biphosphate (PIP2) de la membrane plasmique, en inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) ainsi qu'en 1,2-diacylglycérol (DAG).(48)

L'IP3 se retrouve dans le cytoplasme tandis que le DAG reste attaché à la membrane plasmique. Ce sont des messagers secondaires de la voie de signalisation du récepteur GPIb-IX-V.

L'IP3 va ensuite se fixer sur son récepteur localisé sur le réticulum endoplasmique. Cette fixation engendre la sortie massive d'ions Ca^{2+} du RE vers le cytoplasme plaquettaire.(48)

L'augmentation du Ca^{2+} cytosolique aboutit à l'activation de plusieurs kinases dont le but est d'engendrer :

- La sécrétion des granules α et des granules denses,
- La production du TxA2,
- La production de la phospholipase A2 (PLA2),
- L'activation de l'intégrine $\alpha\text{IIb}\beta_3$,
- La présentation des surfaces procoagulantes.

Toutes ces molécules concourent à l'activation des kinases intra-cellulaires jouant un rôle dans le changement conformationnel des plaquettes.(39)

La fixation du FVW engendre le déroulement et l'extension de deux domaines de la GPIb-IX-V que sont les régions riches en leucine ainsi que le domaine mécanosensitif. Ces modifications conformationnelles permettent d'activer des cascades intra-cellulaires.(40)

La partie intra-cellulaire de la sous-unité GPIb α est fixée aux filaments d'actine par l'intermédiaire de la filamine A. Cette liaison permet aux plaquettes de conserver leur forme ainsi qu'une résistance aux contraintes de cisaillement

élevées. Cette fixation est réversible ce qui permet aux plaquettes de rouler sur la lésion grâce au FVW.

Cependant les voies de signalisations aboutissant à l'activation de l'intégrine $\alpha\text{IIb}\beta 3$ sont encore méconnues à ce jour.

➤ Une cible thérapeutique

Le récepteur GPIb-IX-V est la cible de nouvelles molécules pharmacologiques. L'objectif est d'inhiber l'adhésion plaquettaire chez les patients à risque thrombotique élevé ou atteints de purpura thrombotique.(41) Le purpura thrombotique est un déficit enzymatique de l'ADAMTS13. Ce déficit induit la formation de multimère du FVW aboutissant à la formation de microthrombus par liaison aux plaquettes. Ces thrombus sont à l'origine d'ischémies induisant des lésions au niveau des tissus concernés.(49)

Les essais cliniques en cours sont réglementés par la FDA (Food and Drug Administration) et ciblent deux nouvelles molécules que sont :

- Le Caplacizumab (ALX-0081),
- L'Anfibatide.

❖ Le Caplacizumab

C'est un anticorps monoclonal dont la cible est le FVW multimérique. Cet anticorps interagit avec le domaine A1 du FVW afin d'empêcher l'adhésion des plaquettes grâce à la sous-unité GPIb α du complexe GPIb-IX-V. Les études en cours sont en phase II dans un échantillon restreint de patients. La phase III permettra d'évaluer l'efficacité du traitement chez les patients atteints de purpura thrombotique. (49)

❖ L'Anfibatide

C'est une protéine dérivée du venin de serpent. Les études en cours sont réalisées sur le modèle murin. L'Anfibatide est capable de se lier au récepteur GPIb-IX-V et agit en tant qu'inhibiteur compétitif du FVW. Les résultats prometteurs nécessitent une recherche approfondie sur cette nouvelle molécule chez l'Homme.(50)

2.3.5. Le complexe GPVI

Le complexe GPVI est un récepteur glycoprotéique du collagène appartenant à la super famille des immunoglobulines. La GPVI fut découverte en 1980 suite à l'étude de patients présentant une déficience hémostatique en présence de collagène.

Cette glycoprotéine de 65-kDa est associée à la chaîne γ du récepteur aux immunoglobulines Fc (FcR γ). La GPVI est exprimée à la surface des plaquettes afin d'interagir avec le collagène du sous-endothélium en cas de lésion vasculaire.(51)

Le complexe GPVI-FcR γ est constitué par :

- Un homodimère de GPVI
- Un homodimère de FcR γ

➤ La GPVI

C'est une protéine transmembranaire de type I homodimérique caractérisée en N-terminal par :

- Un domaine D1 de type immunoglobuline extra-cellulaire,
- Un domaine D2 de type immunoglobuline extra-cellulaire,
- Un site de glycosylation extra-cellulaire,
- Une hélice transmembranaire.

La GPVI est caractérisée en C-terminal par :

- Une queue intra-cytoplasmique,
- Une région riche en acides-aminés basiques,
- Un motif riche en proline.

Le FcR γ est caractérisé par :

- Une liaison covalente extra-cellulaire,
- Des motifs d'activation des récepteurs immuns basé sur la tyrosine (ITAM) intra-cellulaire.

La phosphorylation s'effectue sur les motifs ITAM (immunotyrosine-based activation motif) présent sur le FcR γ .(52)

La GPVI permet d'activer les plaquettes grâce à une voie de signalisation caractérisée par une cascade de phosphorylation de tyrosine sur les motifs ITAM (immunotyrosine-based activation motif) présents sur le FcR γ .(52)

Ces phosphorylations sont engendrées par des kinases appartenant à plusieurs familles (Src, Lyn, Fyn). Elles interviennent dans plusieurs voies de signalisations telles que :

- La PI3-K,
- LAT (linker for activation of T-cells),
- Phosphorylation des tyrosines.

La voie de signalisation de la GPVI fait également intervenir une protéine adaptatrice LAT ainsi que la voie des PI3-K. Cette cascade permet d'activer la phospholipase C aboutissant à l'augmentation de la concentration intra-cellulaire du calcium.(53)

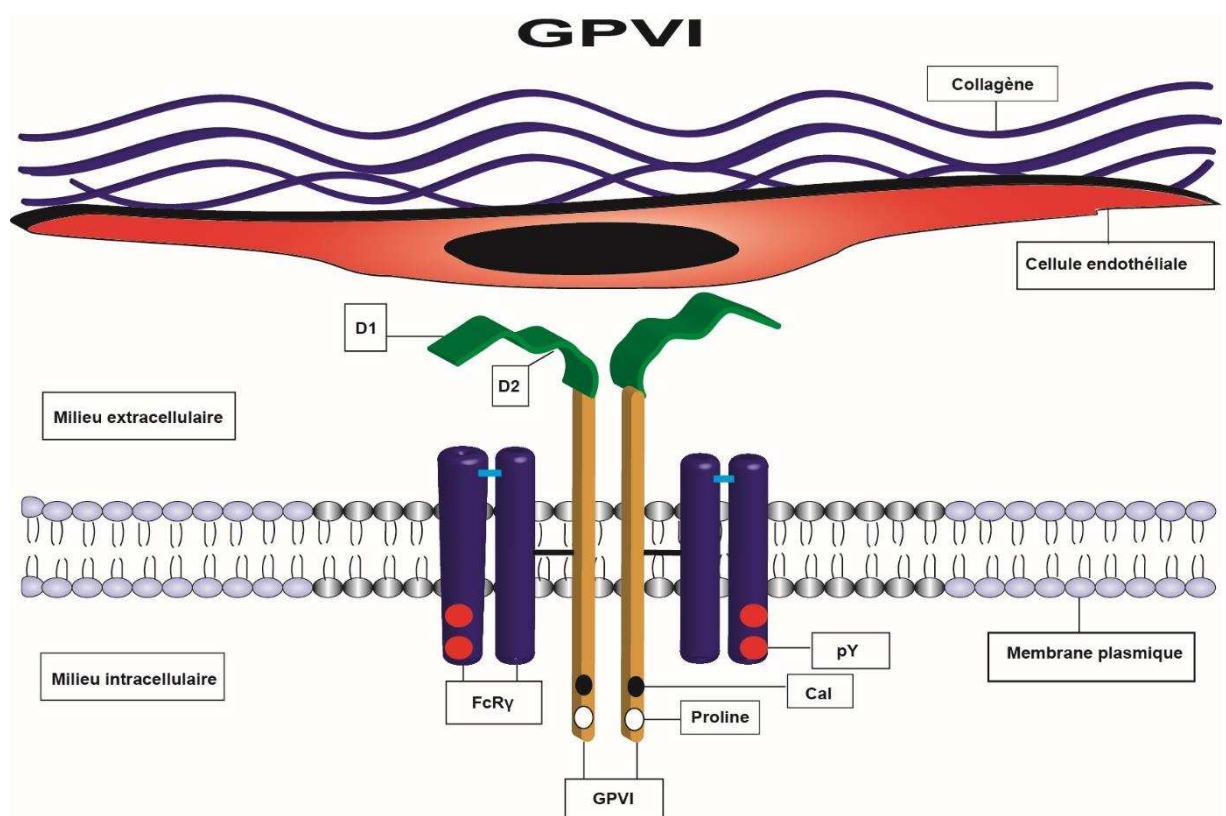


Figure 16: *Schéma du complexe GPVI/FcR γ . pY : Tyrosine ; D1/D2 : Domaines 1 et 2. Iconographie personnelle.*

La liaison du collagène à la GPVI engendre un phénomène de regroupement des récepteurs GPVI sous la forme d'un cluster. La liaison du collagène est à l'origine de la phosphorylation de la tyrosine du motif ITAM de la fraction FcR γ . Cette phosphorylation est médiée par une kinase appartenant à la famille des Src kinases.(53)

Cette phosphorylation permet de recruter la tyrosine kinase Syk qui active une des voies principales de l'activation plaquettaire : la voie de la PI3-K.

➤ La PI3-K

Elle engendre la translocation et l'activation de la PLC γ 2 au sein de la membrane plasmique. Celle-ci convertit le PIP2 membranaire en IP3 et en DAG. L'IP3 va ensuite se fixer sur son récepteur localisé sur le réticulum endoplasmique. Cette fixation engendre la sortie massive d'ions Ca $^{2+}$ du RE vers le cytoplasme plaquettaire.(54)

L'augmentation du Ca $^{2+}$ cytosolique aboutit à l'activation de plusieurs kinases dont le but est d'engendrer :

- La sécrétion des granules α et des granules denses,
- La production du TxA $_2$,
- La production de la phospholipase A2 (PLA2),
- L'activation de l'intégrine α IIb β 3,
- La présentation des surfaces procoagulantes(52).

Collagène -----> GPVI -----> Recrutement Src Kinase -----> Phosphorylation Tyr ITAM -----> PI3-K -----> PLC γ 2 -----> PIP2
-----> IP3 + DAG -----> IP3 + Récepteur IP3 -----> Libération [Ca $^{2+}$] cytosolique -----> Sécrétion granulaire + PLA2 + TxA $_2$ + α IIb β 3

Figure 17: Résumé de l'*activation de la glycoprotéine VI*. (Iconographie personnelle).

➤ La GPVI : Nouvelle cible thérapeutique

La glycoprotéine VI permet d'initier l'adhésion plaquettaire par sa liaison au collagène du sous-endothélium. Une nouvelle molécule, en cours d'étude, serait capable d'inhiber l'adhésion plaquettaire en interagissant avec les ligands de la GPVI que sont les collagènes.(55)

❖ Le Revacept

C'est une nouvelle molécule agissant en tant qu'inhibiteur compétitif de la GPVI. Le Revacept est la forme soluble et dimérisée du récepteur GPVI. C'est une protéine de fusion composée du fragment Fc de l'immunoglobuline G1 humaine et de la partie extra-cellulaire du récepteur GPVI.

Cette protéine soluble est capable de se lier au collagène. De ce fait les plaquettes ne peuvent plus se lier au collagène grâce à leur GPVI puisque les sites sont cachés par le Revacept.

Ce médicament est en phase I et présente un intérêt croissant puisqu'il n'induit pas de diminution de synthèse des récepteurs plaquettaires et ne modifie pas le nombre des plaquettes dans le sang.(55)

2.3.6. Les P2YR(s)

Les P2YR(s) sont des récepteurs appartenant à la famille des récepteurs couplés à la protéine G (RCPG). Chez l'être humain les P2YR(s) forment un groupe composé de huit sous-types que sont les récepteurs P2Y₁R, P2Y₂R, P2Y₄R, P2Y₆R, P2Y₁₁R, P2Y₁₂R, P2Y₁₃R et P2Y₁₄R.(56)

Les P2YR(s) sont des récepteurs capables de fixer les ligands extra-cellulaires tels que les purines et les pyrimidines. Ces molécules peuvent provenir :

- De la lyse cellulaire,
- De l'excrétion cellulaire.

Les principaux rôles au niveau plaquettaire sont détenus par les récepteurs P2Y₁R et P2Y₁₂R. En effet ils présentent la particularité d'entraîner plusieurs processus de l'hémostase primaire grâce à un ligand commun qu'est l'ADP. (57)

De ce fait ces récepteurs engendrent lors de leur activation :

- Un changement de forme des plaquettes,
- Une amplification des signaux plaquettaires,
- Une agrégation réversible,
- La stabilisation de l'agrégation par sécrétion des granules denses.

Les récepteurs P2Y₁R et P2Y₁₂R font partie de deux sous-groupes différents. En effet la P2Y₁R appartient à la famille A des RCPG couplés à la protéine G_q tandis que la P2Y₁₂R appartient au sous-groupe des récepteurs couplés à la protéine G_{ai2} hétérotrimérique. (58)

La régulation de l'action de l'ADP est effectuée par la CD39 également connue sous le nom de nucléoside triphosphate diphosphohydrolase ou encore la NTPDase-1. Cette enzyme est capable d'hydrolyser les molécules d'ATP et d'ADP. Elle est exprimée et sécrétée par les cellules endothéliales ainsi que par les cellules musculaires lisses des vaisseaux sanguins.(59)

➤ La protéine P2Y₁R

C'est un récepteur de 42k-Da constitué de 373 acides aminés. Cette protéine est exprimée dans toutes les cellules humaines. Le gène codant cette protéine est situé sur le bras long du chromosome 3q21-25.(56)

La P2Y₁R est une protéine constituée de sept hélices α transmembranaires. Ces hélices sont connectées entre elles par trois boucles extra-cellulaires et trois boucles intracellulaires. Sa partie C-terminale se situe en intra-cellulaire et sa portion N-terminale se situe en extra-cellulaire. Toutes les P2YR(s) possèdent sur leur domaine extra-cellulaire quatre résidus cystéiques permettant la formation de deux ponts disulfures.(58)

Le premier pont se situe entre la partie N-terminale et boucle extra-cellulaire 3. Le second pont se forme entre les boucles extra-cellulaires 1 et 2.(58)

La particularité du récepteur P2Y₁R est de présenter non pas un mais deux sites de liaisons :

- Un site de liaison localisé sur la partie transmembranaire,
- Un site de liaison localisé en extra-cellulaire à proximité de la membrane.

Le récepteur P2Y₁R est retrouvé aussi bien sur la membrane plasmique des plaquettes que dans les granules α . A l'état quiescent la P2Y₁R présente 40% de ses copies sous la forme dimérisée. Lors de l'activation du récepteur la concentration en P2Y₁R dimérisée augmente fortement. Ce récepteur peut former soit un homodimère soit un hétérodimère.(56)

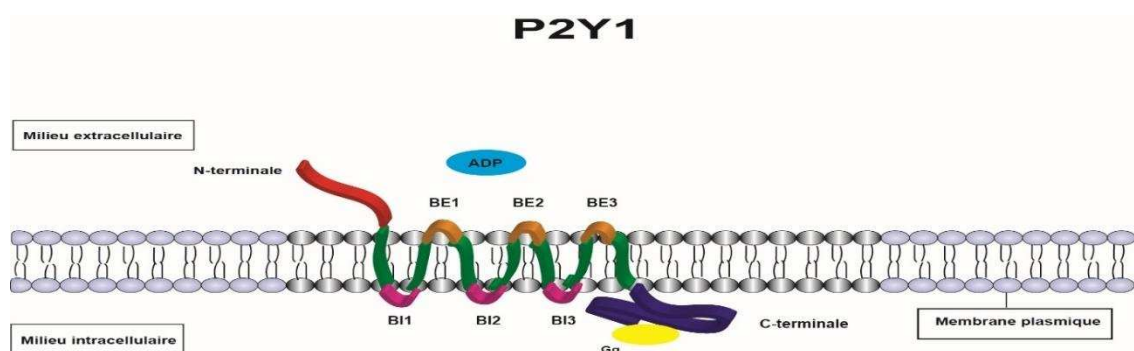


Figure 18: Schéma structurel du récepteur P2Y₁R. BE : Boucle extra-cellulaire, BI : Boucle intra-cellulaire, ADP : Adénosine 5' diphosphate. (Iconographie personnelle).

➤ Cascade d'activation du P2Y₁R

La liaison de l'ADP au récepteur purinergique P2Y₁R engendre l'activation d'une protéine Gq stimulatrice de la phospholipase Cβ. L'activation de la protéine G fait suite à la liaison de l'ADP au récepteur P2Y₁R. Cette liaison engendre un changement conformationnel du récepteur aboutissant à l'expulsion d'une molécule de GDP remplacée par une GTP sur la sous-unité α de la protéine Gαq.(56)

➤ La sous-unité Gαq

Elle agit comme effecteur en activant la phospholipase Cβ. Celle-ci hydrolise les liaisons ester des phospholipides membranaires libérant l'IP3 ainsi que le DAG.(57)

➤ L'IP3

Il se lie à son récepteur sur le réticulum endoplasmique et engendre un signal calcique intra-cellulaire responsable de l'activation plaquettaire.

➤ Le DAG

Il joue le rôle de cofacteur permettant l'activation des protéines kinases C. Ces kinases phosphorylent plusieurs protéines au sein du cytoplasme favorisant l'activation plaquettaire.

Le récepteur P2Y₁ présente la particularité de jouer un rôle modulateur de la réactivité plaquettaire. En effet celui-ci peut être rapidement désensibilisé face à l'ADP.(58)

➤ La protéine P2Y₁₂R

C'est un récepteur composé de 342 acides aminés dont le gène se situe également sur le bras long du chromosome 3 en q21-25. Cette protéine est retrouvée concentrée sur les radeaux lipidiques en oligomères.(56)

Elle présente également une partie N-terminale extra-cellulaire, sept domaines transmembranaires et une partie C-terminale intra-cellulaire parallèle à la membrane. Son agoniste préférentiel est l'ADP tandis que son antagoniste est l'ATP.

Le rôle de la P2Y₁₂R est d'engendrer, sous sa forme liée à l'ADP, une cascade d'inhibition aboutissant à :

- L'amplification de la sortie du Ca²⁺ initiée par la P2Y₁R,
- L'amplification de la sécrétion des granules denses induite par le TXA₂.

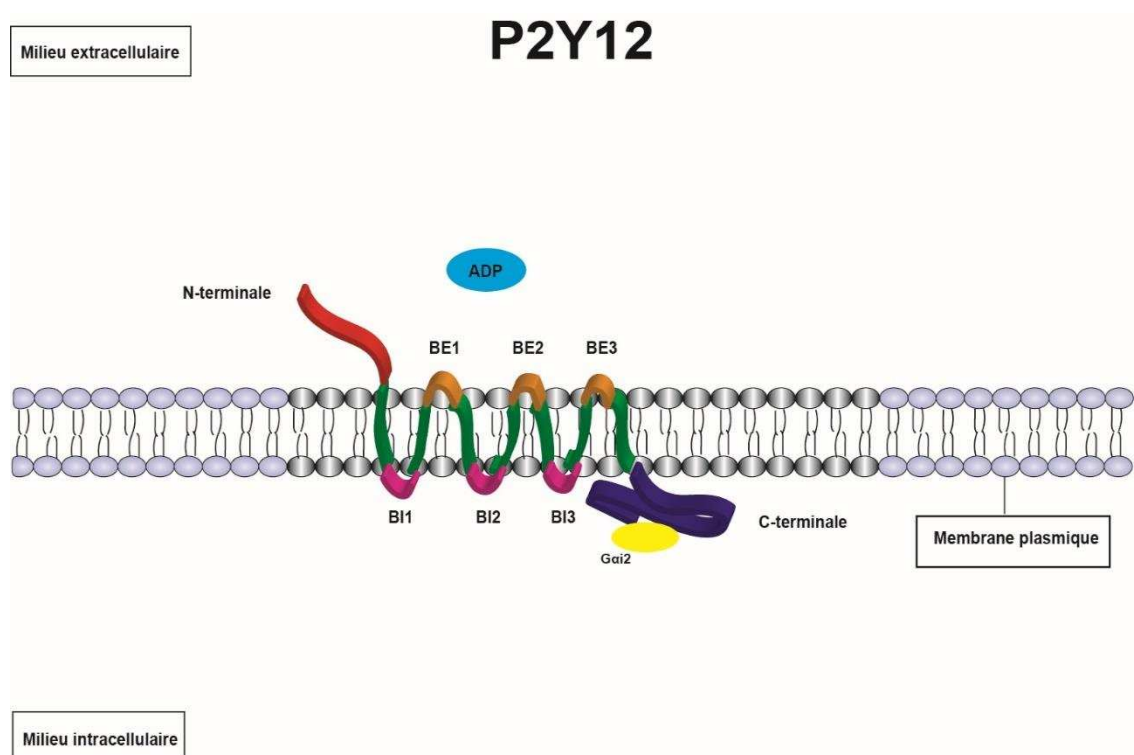


Figure 19: Schéma structurel du récepteur P2Y₁₂R. ADP : Adénosine 5'diphosphate, BE : Boucle extra-cellulaire, BI : Boucle intra-cellulaire. (Iconographie personnelle).

➤ Cascade d'activation du P2Y₁₂R

Il présente un rôle fondamentalement différent. La liaison de l'ADP au P2Y₁₂R engendre l'activation d'une protéine Gai (inhibitrice) hétérotrimérique. Celle-ci libère le GDP, fixe une molécule de GTP et se dissocie : la protéine Gai permet d'inhiber la production d'AMPc produite par l'adénylate cyclase. Elle inhibe donc la production de la protéine kinase A (PKA). Il présente ainsi une fonction permissive et amplificatrice de l'activation plaquettaire. De ce fait le récepteur P2Y₁₂R est capable d'inhiber les freins à la production de l'IP3, du DAG et des protéines kinases.(60)

Les protéines kinases activées sont :

- La PI3-K,
- La kinase Akt (Protéine Kinase B),
- La kinase Rap1-b (Petite GTPase monomérique de la famille Ras),
- La CALDAG-GEFI (Facteur d'échange de nucléotide guanylique dépendant du calcium et du DAG),
- PKC.

➤ La protéine CALDAG-GEFI

Elle permet de faciliter l'échange d'une GDP par une GTP tandis que les petites GTPases facilitent l'hydrolyse du GTP et la liaison du GDP.(61)

Les fonctions de la protéine CALDAG-GEFI sont multiples :

- Promotion de la production du TXA2 dépendant de la CALDAG-GEFI,
- Activation de la protéine Rap1-b,
- Sécrétion des granules.

➤ Le thromboxane A2

La production massive de TXA2 engendre deux effets favorisant l'activation :

- Un effet paracrine,
- Un effet autocrine.

En effet le TXA₂, produit suite au signal calcique, va se fixer à son récepteur membranaire qu'est le récepteur du thromboxane. Ce récepteur est couplé à une protéine Gαq et Gα_{12/13}. La liaison du TXA₂ à son récepteur engendre une boucle de rétrocontrôle positif en activant ces protéines G.(16)

La protéine Gαq active la PLC qui amplifie le signal calcique tandis que la protéine Gα_{12/13} active la protéine Rho-GEF. Cette protéine permet d'activer la protéine Rho par échange d'une GPD par une GTP. La protéine Rho active la kinase ROCK. Cette kinase inhibe la phosphatase des chaînes légères de myosine. Ceci permet à la MLCK de phosphoryler la myosine en synergie avec le signal calcique afin d'induire un changement de forme des plaquettes. Les plaquettes vont émettre, suite à leur activation, des pseudopodes et favoriser la sécrétion des granules à travers la pression produite par la contraction du cytosquelette plaquettaire. (40)

D'autre part l'activation du récepteur au TXA₂ engendre l'agrégation réversible des plaquettes. Cette agrégation réversible nécessite l'activation d'autres récepteurs afin d'engendrer une agrégation plaquettaire irréversible. L'activation de la cascade biochimique du TXA₂ est à l'origine de l'amplification du signal plaquettaire.

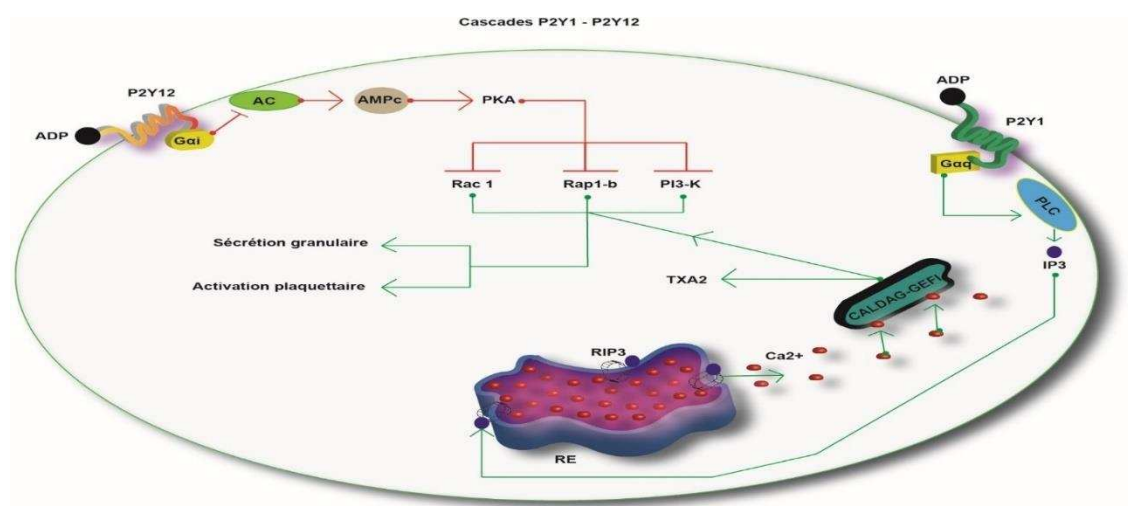


Figure 20: Schématisation des cascades d'activation des récepteurs P2Y1R et P2Y12R. ADP : Adénosine diphosphate ; AC : Adénylate cyclase ; AMPc : Adénosine monophosphate cyclique ; PKA : Protéine Kinase A ; Gαq : Protéine Gαq activatrice ; Gαi : Protéine Gα inhibitrice ; PLC : Phospholipase C ; CALDAG-GEFI : Facteur d'échange de nucléotide guanylique dépendant du calcium et du DAG ; IP3 : Inositol 1,4,5 triphosphate ; RIP3 : Récepteur de l'inositol 1,4,5 triphosphate ; TXA₂ : Thromboxane A₂ ; Rap1-b : GTPase ; PI3-K : Phosphoinositide 3- Kinase ; Rac 1 : GTPase de la famille Rho. (Iconographie personnelle).

➤ Le récepteur P2Y₁₂R : Cible pharmacologique

Le récepteur P2Y₁₂R est la cible de médicaments déjà commercialisés tels que :

- Le Clopidogrel (Plavix®)
- Le Prasugrel (Efient®)
- Le Ticagrélor (Brilique®)

Ces médicaments sont des antiagrégants plaquettaires à prise orale. Ils interagissent en tant qu'antagoniste du récepteur P2Y₁₂R.(41)

❖ Le Clopidogrel

Le Clopidogrel appartient à la classe des thiénoypyridines de seconde génération. C'est un antagoniste irréversible du récepteur P2Y₁₂R.

Il est produit sous la forme d'une prodrogue métabolisée par le foie grâce au cytochrome P450. Seulement 15% de la dose initiale est métabolisée sous la forme active tandis que la majorité de la prodrogue est hydrolysée par une estérase après l'absorption intestinale.

L'efficacité de ce médicament est maximale entre quatre et huit heures après sa prise. L'agrégation plaquettaire redevient normale en cinq à sept jours suite à l'arrêt du traitement.(34,62)

❖ Le Prasugrel

Le Prasugrel est un inhibiteur irréversible du récepteur P2Y₁₂R appartenant à la classe des thiénoypyridines de troisième génération. Il est absorbé per os une fois par jour en tant que prodrogue.

Le Prasugrel est métabolisé une première fois dans l'intestin par des carboxylesterases en thiolactone. Ce thiolactone subit ensuite une oxydation par le cytochrome P450 hépatique transformant celui-ci en un métabolite actif. D'autre part cette prodrogue subit l'action d'estérases aboutissant à la formation d'un métabolite inactif.

L'inhibition de l'agrégation plaquettaire est maximale deux à quatre heures après la prise. Les fonctions plaquettaires reviennent à la norme en cinq à neuf jours après l'arrêt du traitement. Le Prasugrel est souvent associé à l'acide acétylsalicylique afin de potentialiser son effet antiagrégant. (63,64)

❖ Le Ticagrélor

Le Ticagrélor est un inhibiteur allostérique réversible du récepteur $P2Y_{12}R$ appartenant à la famille des analogues de nucléoside. La liaison du Ticagrélor au récepteur $P2Y_{12}R$ engendre un changement conformationnel du récepteur ce qui inhibe les cascades d'activation sous-jacentes. Il est absorbé per os deux fois par jour.

Le Ticagrélor ne nécessite pas de métabolisme hépatique afin d'être efficace. C'est un avantage puisque ce médicament ne fait pas face au polymorphisme génétique des cytochromes.

L'efficacité du Ticagrelor est maximale deux heures après la prise. Les fonctions plaquettaires redeviennent efficaces entre trois à cinq jours après l'arrêt du traitement.(65)

2.3.7. Les PAR(s)

Les récepteurs activés par des protéases (PAR(s)) forment une famille de quatre récepteurs (PAR1-PAR2-PAR3-PAR4) appartenant à la superfamille des récepteurs couplés à la protéine G. Les PAR(s) sont les seuls récepteurs activables par protéolyse.(66)

Les PAR(s) sont les récepteurs activés par la liaison de la thrombine. La thrombine présente la particularité d'être la molécule la plus puissante de l'activation plaquettaire.

Les PAR(s) sont constitués de sept hélices α transmembranaires connectées entre elles par trois boucles extra-cellulaires et trois boucles intra-cellulaires. La partie N-terminale de fixation au ligand se situe en extra-cellulaire tandis que la partie C-terminale conjuguée aux protéines G est intra-cellulaire.(67)

Le récepteur PAR1 présente une affinité forte pour la thrombine qui est son principal ligand au sein des plaquettes. Les PAR1 présentent en moyenne 1 000 à 2 000 copies par plaquette.(67)

La liaison de la thrombine en faible concentration au récepteur PAR1 engendre :

- L'activation plaquettaire,
- La sécrétion plaquettaire,
- L'agrégation plaquettaire réversible,
- L'augmentation de la production de thrombine.

Le récepteur PAR4 est également un récepteur de la thrombine au sein des plaquettes cependant il présente une affinité moindre pour celle-ci.

Comparé au récepteur PAR1, le récepteur PAR4 nécessite une concentration plus élevée en thrombine afin d'être activé et d'engendrer une agrégation plaquettaire irréversible.(68)

➤ Le récepteur PAR1

C'est une protéine transmembranaire constituée de 425 acides aminés. La thrombine se lie par son exosite 1 au motif hirudin-like du récepteur PAR1. La thrombine est alors capable de cliver un pont situé entre l'arginine 41 et la sérine 42 sur la partie N-terminale du récepteur. Ce clivage induit la perte d'un fragment

peptidique démasquant une séquence connue sous le nom de SFLLRN (sérine-phénylalanine-leucine-leucine-arginine-asparagine).

Le clivage entre l'Arg 41 et la Ser 42 par la thrombine engendre un changement de conformation exposant le motif SFLLRN à son nouveau site de liaison qu'est l'exosite 1 de liaison au ligand de la portion N-terminale du récepteur.(67)

Cette nouvelle liaison induit un changement conformationnel des hélices α transmembranaires aboutissant à l'activation de la protéine G située en C-terminale du récepteur PAR1.

La cascade intra-cellulaire engendrée dépend du type de ligand de PAR1. En effet de nombreuses protéases peuvent interagir avec ce récepteur telles que : (69)

- La protéine C activée,
- La plasmine,
- Les métalloprotéases,
- L'élastase,
- La protéinase.

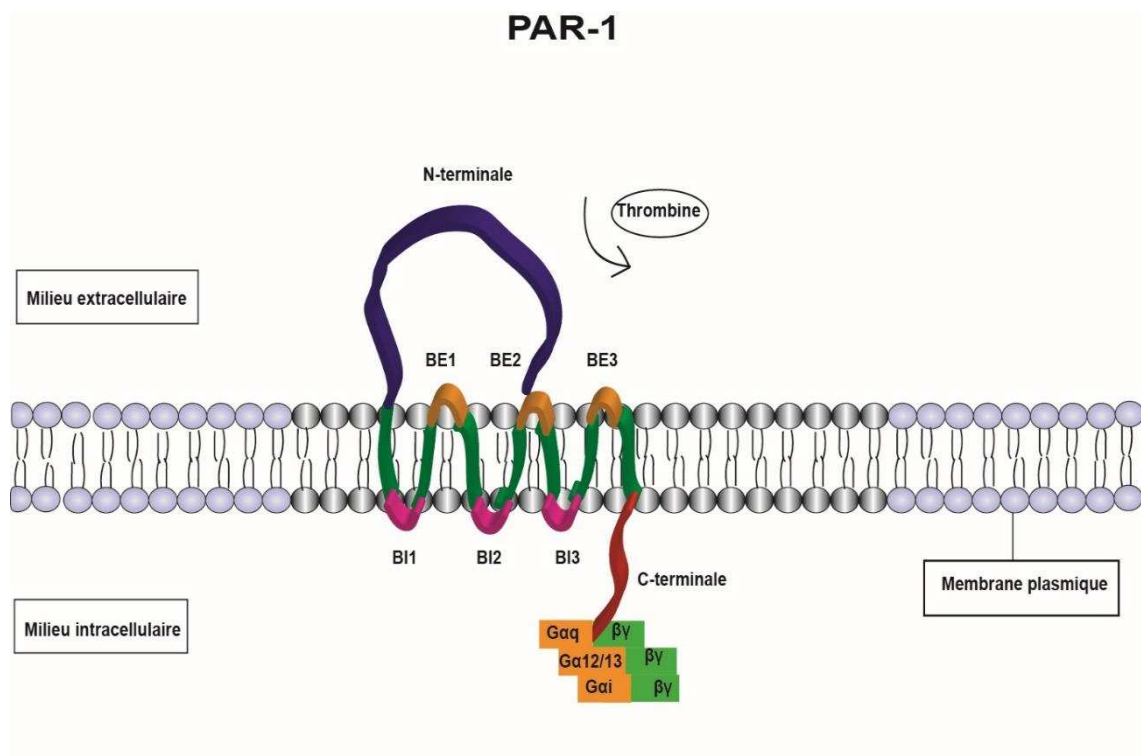


Figure 21: Schéma du récepteur PAR1 activé. BE : Boucle extra-cellulaire, BI : Boucle intra-cellulaire. (Iconographie personnelle).

➤ Cascade d'activation du récepteur PAR1

La liaison de la thrombine, en faible concentration, sur le récepteur PAR1 active différentes protéines G hétérotrimériques par l'échange d'une molécule de GDP par une GTP.(67)

La protéine $G_{\alpha q}$ engendre l'activation de la $PLC\beta$ à l'origine de l' IP_3 et du DAG. L' IP_3 induit un signal calcique aboutissant à la sécrétion granulaire tandis que le DAG active la PKC. Celle-ci est à l'origine de la régulation de nombreuses protéines telles que :(70)

- Les kinases dépendantes du Ca^{2+} ,
- Les MAP kinases,
- Les récepteurs à activité tyrosine kinase,
- Les GEF Ras.

La protéine $G_{\alpha_{12/13}}$ active quant à elle active les Rho kinases dont l'un des objectifs est d'inhiber la phosphatase des chaînes légères de myosine (PCLM) favorisant le changement de conformation des plaquettes.(66)

La protéine $G_{\alpha i}$ inhibe l'adénylate cyclase à l'origine de la production d'AMPc. L'AMPc intervient en tant qu'inhibiteur de l'activation plaquettaire par l'intermédiaire de la PKA. Cette cascade engendre l'inhibition de plusieurs voies telles que :(66)

- La sécrétion des granules plaquettaires,
- L'activation de la GPIIb-IIIa,
- L'augmentation du calcium intra-cellulaire.

Le couplage des différentes voies de signalisation permet d'aboutir à l'activation plaquettaire.

L'activation du récepteur PAR1 induit :

- L'activation plaquettaire,
- L'agrégation réversible,
- Les changements conformationnels,
- La sécrétion granulaire.

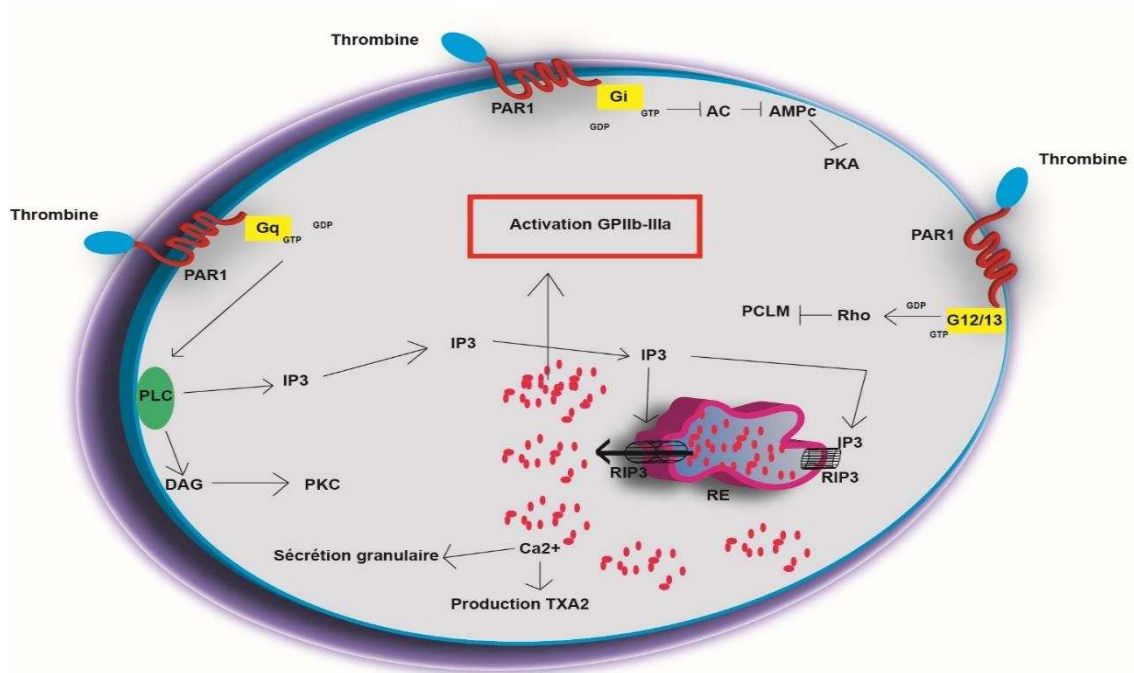


Figure 22: Schéma des cascades d'activation médiées par les récepteurs PAR(s). Gq : Protéine Gq activatrice ; Gi : Protéine G inhibitrice ; G12/13 : Protéine G activatrice ; PLC : Phospholipase C ; DAG : Diacylglycérol ; IP3 : Inositol 1,4,5 triphosphate ; PKC : Protéine Kinase C ; AC : Adénylate Cyclase ; AMPc : Adénosine mono phosphate ; PKA : Protéine Kinase A ; Rho : GTPase ; PCLM : Phosphatase des chaînes légères de myosine ; RIP3 : Récepteur canal de l'IP3 ; TXA2 : Thromboxane A2. (Iconographie personnelle).

➤ Le récepteur PAR1 : Une nouvelle cible thérapeutique

Le récepteur PAR1 est l'objet d'études en cours permettant de produire deux nouvelles molécules pharmacologiques. Ces molécules sont des antagonistes du PAR1 par inhibition de l'action de la thrombine sur son site de clivage.(71)

Ces molécules sont :

- Le Vorapaxar
- L'Atopaxar

❖ L'Atopaxar

L'Atopaxar est une amidine bicyclique agissant en tant qu'antagoniste orthostérique du PAR1. Un antagoniste orthostérique est un inhibiteur compétitif se liant à la place du ligand habituel.

Cette molécule est allée jusqu'en phase II chez des patients atteints de syndrome coronariens aigus. Cependant les résultats ont montré une augmentation importante du temps de saignement ainsi qu'un risque d'hémorragie. L'Atopaxar n'est pas encore passé en phase III.(69)

❖ Le Vorapaxar

Le Vorapaxar est une phénylpyridine agissant en tant qu'antagoniste orthostérique de PAR1. Cette molécule fut étudiée et approuvée par la FDA en tant que médicament utilisé en prévention secondaire chez les patients ayant des antécédents d'infarctus du myocarde.

Le Vorapaxar est absorbé per os une fois par jour. Il est métabolisé dans le foie sous la forme d'un métabolite actif : Le monohydroxy-vorapaxar (M20). Le Vorapaxar présente une demi-vie de six à treize jours. Son élimination se fait principalement par les fèces sous la forme d'un métabolite inactif.(69)

➤ Le récepteur PAR4

Celui-ci active, en présence d'une forte concentration en thrombine, les mêmes voies que PAR1. Cependant PAR4 travaille en synergie avec le récepteur P2Y₁₂. En effet l'activation de PAR4 engendre :(66)

- L'activation plaquettaire soutenue,
- L'agrégation irréversible des plaquettes,
- L'activation de la GPIIb-IIIa.

➤ Cascade d'activation du PAR4

C'est une protéine transmembranaire constituée de 385 acides aminés. A la différence de PAR1 le récepteur PAR4 ne possède pas de domaine hirudin-like sur sa portion N-terminale. Ce récepteur est capable de lier la thrombine grâce à un motif anionique DDED (Acide aspartique – Acide aspartique – Acide glutamique – Acide aspartique) attirant le motif cationique de la thrombine. De part cette interaction électrostatique la dissociation de la thrombine et de PAR4 est plus longue que pour le récepteur PAR1. (67)

Le récepteur PAR4 présente la capacité d'induire :

- Une agrégation plaquettaire irréversible,
- Une élévation de calcium intra-cellulaire soutenue,
- Une activation prolongée de l'intégrine $\alpha\text{IIb}\beta_3$,
- Une sélectivité des voies de signalisation.

Ces modifications de conformation des récepteurs PAR(s) concourent à l'activation de plusieurs voies de signalisation médiées par la protéine G grâce à ses sous-unités :

- G α_q stimulatrice de la phosphokinase C,
- G α_i inhibitrice de l'adénylate cyclase,
- G $\alpha_{12/13}$ activatrice des Rho kinases.

Ce sont ces différentes voies qui permettent aux plaquettes de réagir face à une lésion vasculaire.(70)

2.3.8. L'intégrine GPIIb-IIIa

L'intégrine GPIIb-IIIa est un récepteur d'adhésion cellulaire appartenant à la famille des intégrines. Cette glycoprotéine joue un rôle majeur au sein des plaquettes car elle représente la voie finale d'adhésion, d'activation et d'agrégation plaquettaire. Au sein des plaquettes elle est la protéine transmembranaire la plus synthétisée en possédant, en moyenne, 80 000 à 100 000 copies par plaquette.(72)

Le rôle majeur de l'intégrine GPIIb-IIIa est de lier le fibrinogène également connu sous le nom de Facteur I. Cette liaison au fibrinogène permet la formation du clou plaquettaire par agrégation de plusieurs plaquettes entre elles au niveau du vaisseau lésé.(73)

Les gènes codant l'intégrine GPIIb-IIIa sont localisés sur le bras long du chromosome 17 en 17q21.32. La GPIIb-IIIa est un hétérodimère dont les sous-unités respectives sont la GPIIb et la GPIIIa. Chaque sous-unité provient d'un gène différent sur le chromosome 17.(74)

Les deux sous-unités sont synthétisées de manière différente. En effet la sous-unité GPIIb est synthétisée sous la forme d'une Pro GPIIb constituée d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère reliées entre elles par un pont disulfure. La GPIIIa est quant à elle entièrement synthétisée sous sa forme mature.(74)

La ProGPIIb est transportée au sein du réticulum endoplasmique afin de subir des glycosylations post-transcriptionnelles tout en permettant de former le complexe ProGPIIb-IIIa. Par la suite ce complexe est acheminé vers le Golgi afin de convertir les mannoses de la ProGPIIb en un composé oligosaccharidique complexe. Finalement un clivage protéolytique permet d'aboutir à la formation du complexe mature GPIIb-IIIa. Cette protéine sera ensuite dirigée soit vers la membrane plasmique soit stockée dans les granules α .(74)

Les principaux ligands de la GPIIb-IIIa sont :

- Le fibrinogène,
- Le FvW,
- La thrombospondine,
- La fibronectine,
- La vitronectine.

Chaque sous-unité du complexe est une protéine transmembranaire de type I dont la partie N-terminale est extra-cellulaire et la partie C-terminale intra-cellulaire. La partie transmembranaire est composée d'une unique hélice. Les deux sous-unités sont liées de façon non-covalente au sein de la membrane plasmique.(75)

La GPIIb présente sur sa portion N-terminale :

- Sept hélices formant le « β propeller »,
- Une cuisse,
- Un genou,
- Deux mollets Calf-1 et Calf-2.

La GPIIb présente sur sa portion C-terminale :

- Une hélice α ,
- Une séquence Asn-Arg-Pro-Pro (NRPP).

La GPIIIa présente sur sa portion N-terminale :

- Un domaine A,
- Un domaine d'hybridation,
- Un complexe sémaphorine plexine des intégrines (PSI),
- Quatre domaines présentant le facteur de croissance épidermique (EGF),
- Un domaine de queue β .

La GPIIIa présente sur sa portion C-terminale :

- Une longue hélice α ,
- Des motifs NXXY (Asn-X-X-Tyr).

La glycoprotéine GPIIb-IIIa est capable de moduler sa conformation grâce à la liaison du ligand. La GPIIb-IIIa activée présente un éloignement de ses hélices α en intra-cellulaire tandis que l'absence de ligand rapproche les hélices α qui interagissent entre-elles par des liaisons électrostatiques et hydrophobes. En l'absence de ligand la GPIIb-IIIa est repliée sur elle-même.(75)

Le site de liaison se situe entre le « β propeller » et le domaine A de chaque sous-unité. En effet le domaine β propeller est capable de reconnaître le motif Arg-Gly-Asp (RGD) contenu dans les ligands suivants :

- Fibrinogène,
- FVW.

Les motifs NRPP et NXXY forment des boucles capables de rapprocher la portion C-terminale de chaque sous-unité vers la membrane plasmique.(75)

Le domaine d'hybridation et le domaine PSI permettent d'exposer le domaine A en se repliant lors de l'activation du récepteur.

Les genoux apportent une certaine flexibilité à la glycoprotéine ce qui lui permet de changer de conformation entre ses états actif et inactif.

De nombreux contacts hydrophobiques et ioniques sont établis entre les différents domaines de chaque sous-unité afin de maintenir la forme du complexe.

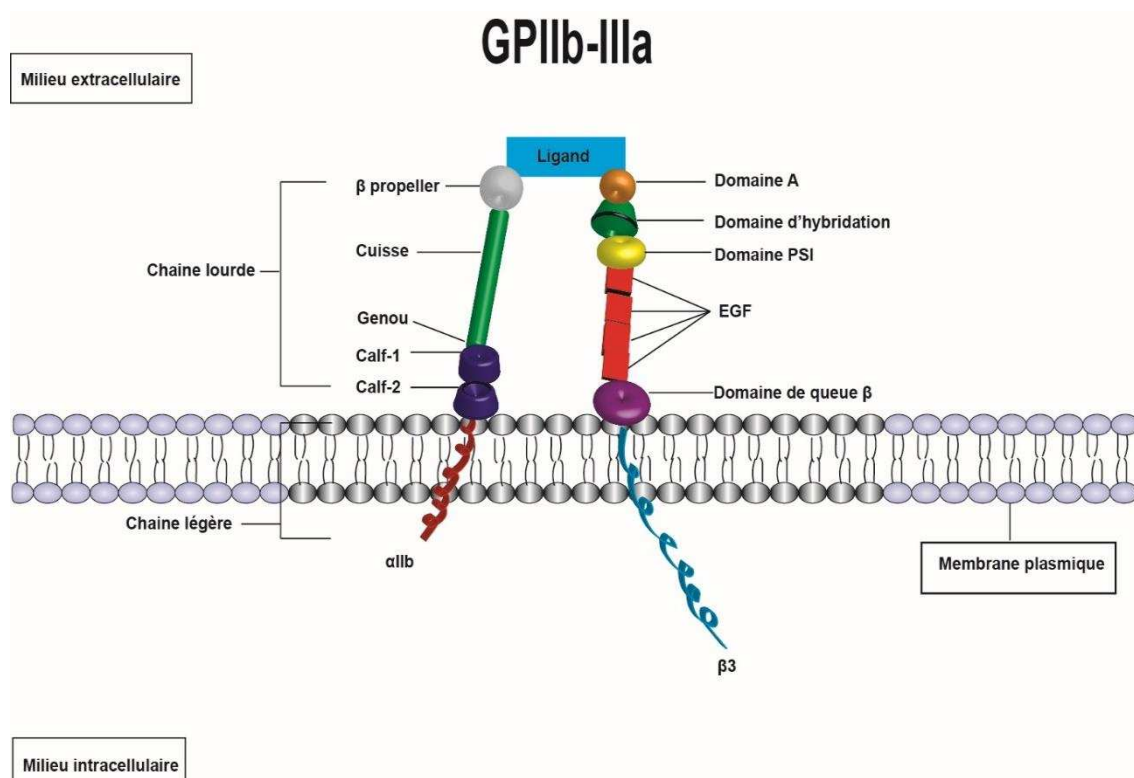


Figure 23: Schéma de la GPIIb-IIIa sous sa forme étendue. EGF : Facteur de croissance épidermique, PSI : complexe sémaphorine plexine des intégrines. (Iconographie personnelle).

L'intégrine $\alpha\text{IIb}\beta 3$ présente la particularité d'être le produit terminal de l'activation plaquettaire. En effet celle-ci subit un changement conformationnel dont la forme obtenue est de haute affinité pour ses principaux ligands tels que le FVW ainsi que le fibrinogène. L'activation terminale de la GPIIb-IIIa est la signalisation « inside-out ».(76)

Cette activation est médiée par plusieurs protéines que sont :

- La taline,
- La kindline,
- La RIAM (Rap1-GTP Interacting Adapter Molecule),
- La Rap1.

➤ La taline

C'est une protéine cytoplasmique capable de lier la sous-unité $\beta 3$ sur le domaine NPXY de la portion intra-cellulaire de l'intégrine. Cette protéine migre vers l'intégrine grâce au signal calcique. Ce signal active la CALDAG-GEFI activant la protéine Rap1-GDP en Rap1-GTP. La Rap1-GTP est recrutée par la protéine RIAM dans le but de se lier à la taline. Cette liaison est réalisée grâce au domaine FERM (protéine 4.1, ezrine, radixine, moesine) de la taline. Celle-ci permet d'activer l'intégrine par éloignement de la sous-unité β de la membrane plasmique. L'intégrine est alors sous sa forme étendue, active et présentant une forte affinité pour ses ligands.(77)

➤ La kindline

Selon les dernières données acquises de la science, la kindline jouerait le rôle de cofacteur au cours de l'activation de l'intégrine GPIIb-IIIa et permettrait de rassembler les intégrines, activées par la taline, sous la forme d'un cluster d'intégrines.(78)

Les voies de signalisation « outside-in » de l'intégrine GPIIb-IIIa peuvent être décomposées en une phase précoce et une phase tardive. Au cours de la phase précoce, la liaison du fibrinogène à l'intégrine engendre l'activation de la protéine G α 13.(48)

Celle-ci recrute des kinases Src phosphorylant des protéines telles que :

- La PI3-K engendrant la sécrétion granulaire,
- La Rap1b engendrant l'émission de pseudopodes,
- La Rac1 (GTPase) engendrant l'émission de pseudopodes.

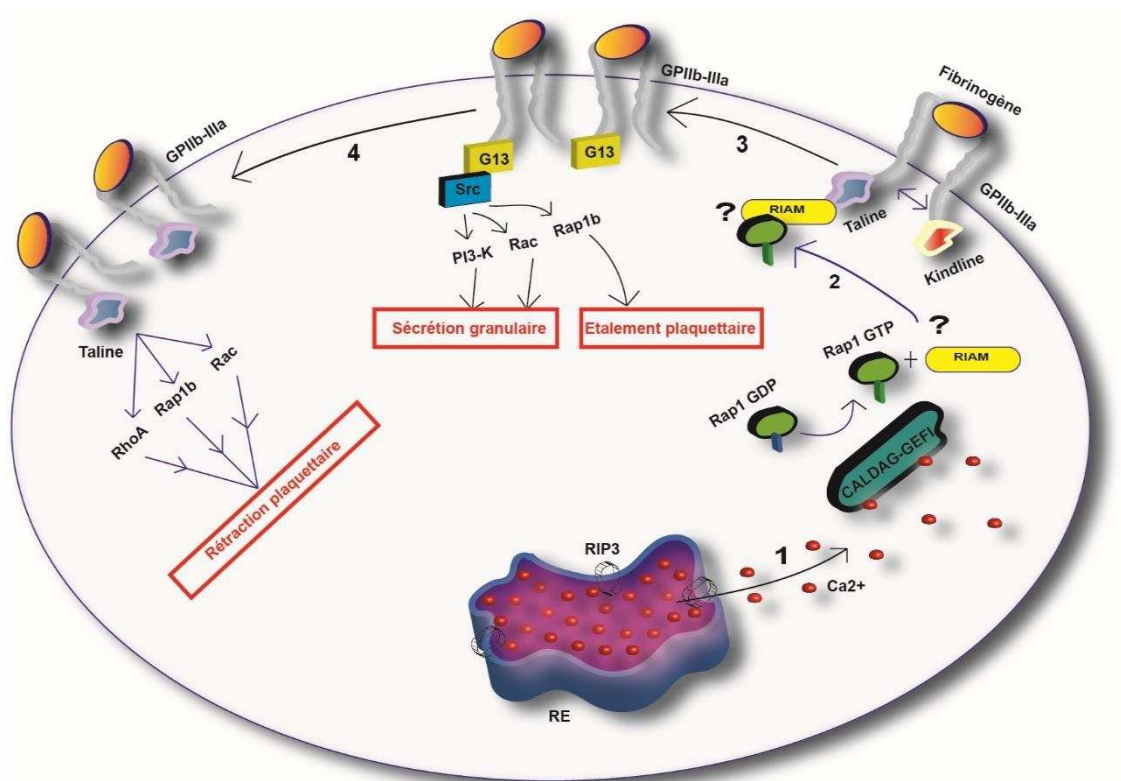


Figure 24: *Schéma général de l'activation de la GPIIb-IIIa.* G13 : Protéine G13 ; Src : Tyrosine kinase ; RIAM : Rap1-GTP Interacting Adapter Molecule ; CALDAG-GEFI : Facteur d'échange de nucléotide guanylique dépendant du calcium et du DAG ; IP3 : Inositol 1,4,5 triphosphate ; RIP3 : Récepteur de l'inositol 1,4,5 triphosphate ; Rap1-b : GTPase ; PI3-K : Phosphoinositide 3- Kinase ; Rac : GTPase de la famille Rho ; RhoA : Petite GTPase. (Iconographie personnelle).

➤ La phase précoce

Elle permet d'aboutir à différentes voies de signalisations dont les objectifs sont :

- Soutenir l'activation plaquettaire,
- Stabiliser l'adhésion,
- Provoquer l'étalement plaquettaire,
- Réaliser l'amplification de l'agrégation.

➤ La phase tardive

Elle est marquée par la formation d'un clou plaquettaire. La rétraction plaquettaire est médiée par l'activité des kinases Src. Celles-ci activent la PLC γ 2 aboutissant à l'obtention d'un signal calcique. Ce signal calcique active la kinase des chaînes légères de myosines. Celle-ci phosphoryle les CLM aboutissant à la contraction grâce au complexe actine/myosine. Cette contraction se traduit visuellement par la rétraction du clou plaquettaire.(75) Cette voie de signalisation est essentielle afin d'assurer l'efficacité des mécanismes plaquettaires que sont :

- La rétraction du clou plaquettaire,
- L'agrégation irréversible des plaquettes.

➤ La GPIIb-IIIa : nouvelle cible thérapeutique

Le domaine PSI de la GPIIb-IIIa présente un intérêt majeur pour la recherche de nouvelles molécules pharmacologiques. Ce domaine présente une protéine disulfure isomérase (PDI) qui permet de faciliter la liaison du fibrinogène à la GPIIb-IIIa.(41)

❖ L'anticorps monoclonal anti-PSI

Cet anticorps permet de lier le domaine PSI et d'empêcher le changement conformationnel du récepteur initié par la PDI. La liaison au fibrinogène décroît et diminue l'activité du récepteur. Cet anticorps a fait l'objet d'études sur le modèle murin. L'utilisation de cet anticorps diminue le pouvoir agrégant du récepteur GPIIb-IIIa sans modifier la numération plaquettaire. L'anticorps monoclonal anti-PSI se positionne donc en tant qu'inhibiteur du domaine régulateur PSI de la glycoprotéine IIb-IIIa.(79)

2.3.9. L'agrégation plaquettaire

Les cascades d'activation plaquettaire engendrent l'activation du récepteur GPIIb-IIIa dont le ligand n'est autre que le fibrinogène. Le fibrinogène permet de constituer un réseau reliant les différentes plaquettes activées entre elles.(39)

➤ Le fibrinogène

Le fibrinogène, ou facteur I, est une protéine procoagulante synthétisée par le foie et les mégacaryocytes. C'est une protéine de 45nm composée de trois domaines. Deux domaines latéraux D connectés à un domaine central E. Le fibrinogène présente trois paires de chaînes que sont :(80)

- Les chaînes A α ,
- Les chaînes B β ,
- Les chaînes γ .

Ces chaînes sont liées entre elles au niveau du domaine E représentant la portion N-terminale du fibrinogène. La liaison est réalisée par cinq ponts disulfures.

Les domaines D sont capables de lier différents récepteurs tels que :

- L'intégrine GPIIb-IIIa,
- Les leucocytes,
- L'antithrombine I,
- L'antiplasmine α_2 ,
- Les lipoprotéines.

Ainsi la formation du clou plaquettaire provient de la capacité du fibrinogène à lier deux plaquettes entre elles grâce aux récepteurs $\alpha_{IIb}\beta_3$. Cette interaction permet d'initier l'agrégation plaquettaire afin de stopper l'hémorragie.(80)

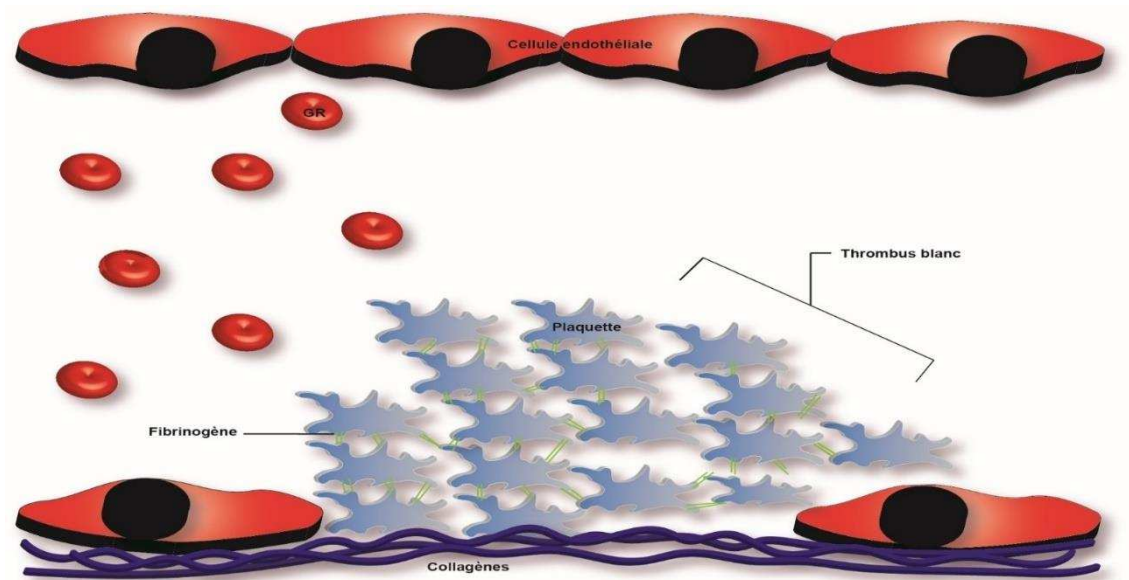


Figure 25: *Schéma de l'agrégation plaquettaire*. GR : Globule rouge. (Iconographie personnelle).

2.4. LES INHIBITEURS PLAQUETTAIRES

2.4.1. L'oxyde nitrique

L'oxyde nitrique (NO) est un inhibiteur plaquettaire ainsi qu'un vasodilatateur provenant des cellules endothéliales et des plaquettes. Il est retrouvé dans les cellules sous trois formes distinctes : L'oxyde nitrique (NO), l'anion nitrosyl (NO⁻) et le cation nitrosium (NO⁺). (81)

➤ Origine de l'oxyde nitrique

La production du NO est assurée par une enzyme catalysant la transformation de l'arginine en oxyde nitrique : L'oxyde nitrique synthase (NOS). Il existe trois types d'NOS :

- L'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS),
- L'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS),
- L'oxyde nitrique synthase neuronale (nNOS).

L'eNOS est exprimée dans :

- Les cellules endothéliales,
- Les mégacaryocytes,
- Les plaquettes. (82)

La production du NO est induite par une réaction oxydative calcium dépendante ainsi l'oxydation de la L-Arginine par l'eNOS induit la formation de la L-Citrulline et du NO. (82)

L'oxyde nitrique sécrété par les cellules endothéliales permet d'inhiber l'adhésion et l'agrégation plaquettaire en diffusant à travers la membrane plasmique des plaquettes. Cette diffusion permet à l'oxyde nitrique de se lier à la guanylate cyclase soluble (cGS).

La cGS subit un changement conformationnel suite à la fixation du NO. Cette conformation augmente l'activité enzymatique de la cGS engendrant une augmentation rapide de la concentration en guanosine 5'-monophosphate cyclique (GMPc) intra-cellulaire.

L'augmentation de la concentration en GMPc permet d'activer plusieurs cascades intra-cellulaires permettant de diminuer la concentration en ion calcium des plaquettes. (81)

Cette diminution du calcium intra-cellulaire inhibe l'adhésion et l'activation plaquettaire en agissant sur : (fig9)

- Le récepteur GPIIb-IIIa bloqué sous sa forme inactive,
- La diminution de l'affinité des plaquettes pour le fibrinogène,
- L'inhibition de la voie PI3K,
- L'inhibition de la PLA2 diminuant le taux de TXA2,
- L'inhibition de la phosphodiesterase III (PDEIII) dont le rôle est d'hydrolyser l'AMPc et la GMPc,
- La régulation négative de la P-sélectine par inhibition de la protéine kinase C (PKC).

Le NO permet de maintenir les plaquettes à l'état de repos. Cependant il est également sécrété au cours de l'agrégation plaquettaire en agissant tel un régulateur de l'agrégation en limitant celle-ci.(83)

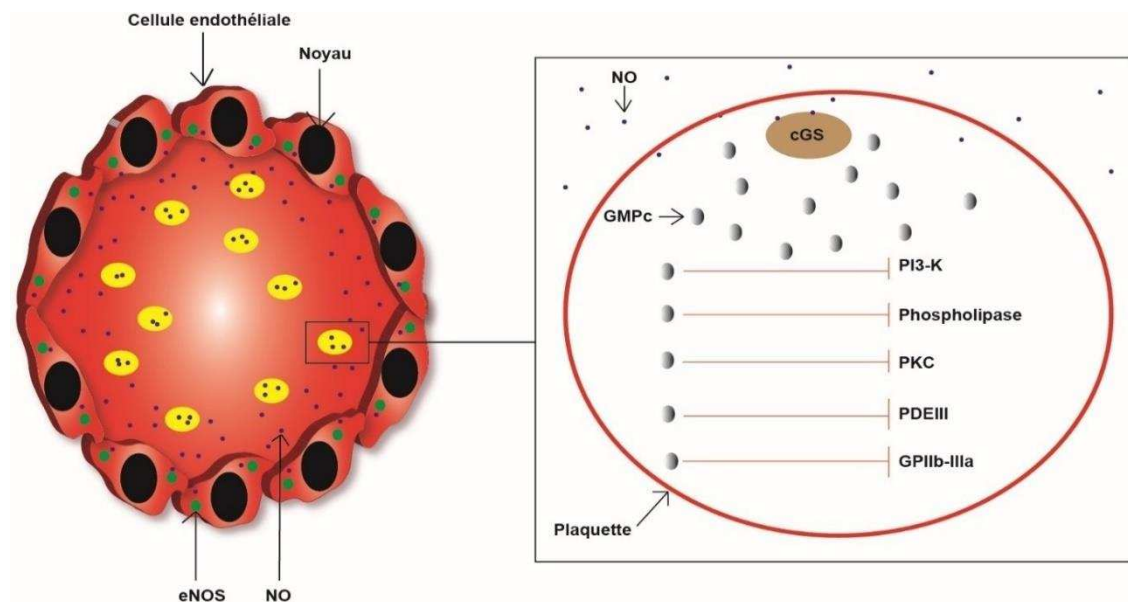


Figure 26: Schéma des voies d'inactivation médiées par le NO. cGS : Guanylate cyclase soluble ; GMPc : Guanosine 5' monophosphate cyclique ; GPIIb-IIIa : Glycoprotéine ; eNOS : Oxyde nitrique synthase endothéliale ; NO Oxyde nitrique ; PDEIII : Phosphodiesterase III ; PI3-K : Phosphoinositide 3 kinase ; PKC : Protéine kinase C. (81) (Iconographie personnelle).

2.4.2. La prostacycline

➤ Origine de la prostacycline

La prostacycline (PGI₂) est une molécule dérivée d'un acide gras insaturé : l'acide arachidonique.(84) Celle-ci est le résultat du métabolisme de l'acide arachidonique par deux complexes enzymatiques :

- La prostaglandine endoperoxydase H connue sous le nom de la cyclo-oxygénase (COX)(85),
- La 5-lipoxygénase(85).

La COX catalyse la formation de la prostaglandine G₂ (PGG₂) et réduit la PGG₂ sous une forme instable : la prostaglandine H₂ (PGH₂). (85)

La prostacycline synthase permet de catalyser la formation de la prostacycline au sein des cellules endothéliales à partir de la PGH₂. (85)

➤ Les fonctions de la prostacycline

La prostacycline possède des propriétés vasodilatatrices et anti-thrombotiques. Celle-ci interagit avec les plaquettes grâce à son récepteur situé dans la membrane plasmique des plaquettes. Ce récepteur appartient à la famille des récepteurs couplés à la protéine G. Il est constitué de sept domaines transmembranaires, une région N-terminale extra-cellulaire et une région C-terminale intra-cellulaire.(86)

➤ Cascade biochimique de la prostacycline

La liaison de la prostacycline au récepteur couplé à la protéine G active l'adénylate cyclase. Celle-ci engendre la formation de l'AMPc qui active la protéine kinase A (PKA) AMPc dépendante. Cette PKA phosphoryle alors différentes protéines telles que :

- Le récepteur de l'inositol triphosphate 1,4,5(87),
- La kinase des chaînes légères de myosine (MLCK)(88),
- La phosphoprotéine vasodilatatrice stimulée (VASP)(89).

L'activation par phosphorylation de chacune de ces protéines induit l'inhibition des voies telles que :

- La sécrétion des granules plaquettaires(90),
- L'activation de la GPIIb-IIIa(90),
- La protéine kinase C (PKC)(91),
- L'augmentation du calcium intra-cellulaire.

La sécrétion de prostacycline induit l'inactivation des plaquettes afin de réguler l'homéostasie vasculaire dans les conditions physiologiques.

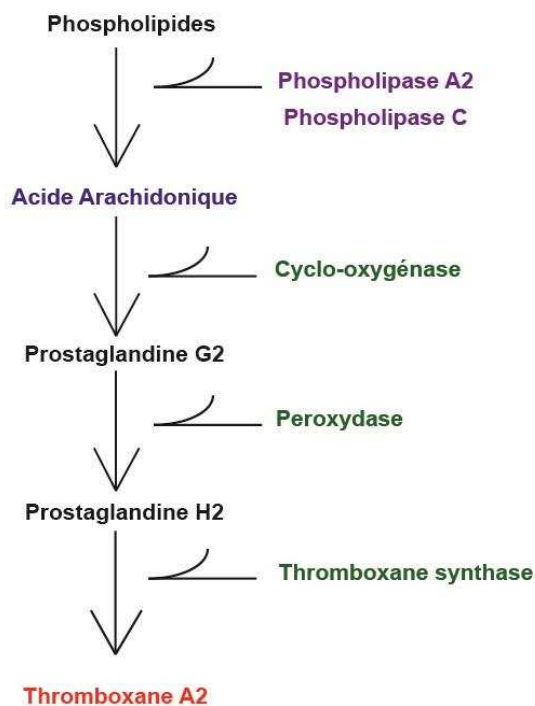


Figure 27: *Métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire.* (Iconographie personnelle).

➤ L'Aspirine® : molécule pharmacologique

L'Aspirine® ou acide acétylsalicylique est une molécule pharmacologique capable d'inhiber l'agrégation plaquettaire.

❖ Absorption

Ce médicament nécessite une prise par voie orale. Celui-ci est métabolisé par les estérases sanguines ainsi que par le foie sous sa forme active qu'est le salicylate. Cette molécule est capable d'inhiber de façon irréversible la cyclo-oxygénase 1 (COX-1). (92)

❖ Mécanisme d'action

L'inhibition de la COX-1 empêche l'acide arachidonique d'être métabolisé par cette enzyme. Ce processus aboutit à l'inhibition de la production du TXA2 nécessaire pour l'activation et l'amplification plaquettaire. (92)

3. APPLICATIONS PRATIQUES

3.1. APPLICATIONS CLINIQUES

3.1.1. Les patients à risque hémorragique

Les patients rencontrés au sein du cabinet peuvent être soumis à un traitement antiagrégant plaquettaire au cours de leur vie. Les indications principales d'un traitement anti-plaquettaire sont préventives ou curatives.(94)

- Les indications curatives
 - Les angioplasties,
 - La pose d'un stent,
 - La maladie de Vasquez,
 - Les vascularites.

- Les indications préventives
 - Risque d'Angor,
 - Risque d'infarctus du myocarde,
 - Risque d'arrêt vasculaire cérébral (AVC),
 - Les antécédents d'Angor,
 - Les antécédents d'AVC,
 - Les antécédents d'accidents ischémiques.

Ces traitements peuvent être administrés sous diverses formes :

- En monothérapie,
- En bithérapie.

Selon les recommandations de la SFCO la poursuite du traitement AAP est nécessaire pour les chirurgies suivantes bien que le risque hémorragique soit plus élevé :

- Dentaires,
- Cardiaques,
- Dermatologiques,
- Orthopédiques,
- Vasculaires,
- Cataracte.

Les antiagrégants plaquettaires sont regroupés en plusieurs familles dans le tableau suivant :

	Dénomination commune internationale	Nom commercial
Les thyénopyridines	Clopidogrel Ticlopidine Ticagrélor Prasugrel	Plavix® Ticlid® Brilique® Efient®
L'aspirine	Acide acétylsalicylique Acétylsalicylate de lysine	Aspirine® Kardégic® Aspégic®
Les AINS	Le flurbiprofène	Cébutid®
Les bithérapies	Dipyradamole - Acide acétylsalicylique Clopidogrel - Acide acétylsalicylique	Asasantine® Duoplavin®

Tableau 2: Les principaux AAP rencontrés chez les patients.

3.1.2. Exploration de l'hémostase

L'exploration de l'hémostase est réalisée sur ordonnance par un médecin ou un chirurgien-dentiste pour définir le risque thrombotique ou hémorragique.

L'exploration de l'hémostase est basée sur le terrain (numération plaquettaire) et sur la nature de l'acte chirurgical à réaliser.

➤ La numération plaquettaire

Elle permet de comptabiliser le nombre de plaquette dans un volume de sang prélevé. La numération plaquettaire normale oscille entre 150 000 et 450 000 plaquettes par mm^3 (150 – 450G/L).

Une concentration plaquettaire inférieure à 150 000/ mm^3 reflète une thrombopénie. Une concentration plaquettaire supérieure à 450 000/ mm^3 reflète une thrombocytose.

Dans le cadre d'un acte de chirurgie dentaire ces actes peuvent être réalisés lorsque le taux de plaquette est supérieur à 80 000/ mm^3 tout en prévoyant des moyens d'hémostase locaux disponibles au sein du cabinet dentaire.

Une concentration inférieure à 80 000/ mm^3 nécessite une prise en charge spécialisée en milieux hospitalier.

La connaissance de la numération plaquettaire est nécessaire mais pas suffisante pour évaluer efficacement la capacité du patient à réagir face à un saignement.

➤ L'INR

L'INR est le rapport suivant :(93)

$$\text{INR} = \left[\frac{\text{TQ patient}}{\text{TQ témoin}} \right]^{\text{ISI}}$$

Le temps de Quick (TQ patient) du patient est défini comme le temps de coagulation du plasma sanguin sur tube citraté en l'absence de plaquettes.

Le temps de Quick témoin (TQ témoin) est un temps de référence de la coagulation compris entre 11 et 13 secondes.

Un patient traité par AVK doit posséder un INR compris dans un intervalle thérapeutique de 2 à 4 pour pouvoir être soigné au sein du cabinet dentaire avec des dispositifs d'hémostase locaux. La mesure de l'INR doit être réalisée 24 à 72 heures avant la réalisation de l'acte chirurgical.

Si l'INR du patient est inférieure à 2 ou égal à 1 cela signifie que le traitement anticoagulant ne fonctionne pas et que le risque thrombotique est majoré. Il est nécessaire de contacter le médecin traitant du patient.

Lorsque le patient prend un traitement anticoagulant par AVK il est nécessaire de connaître l'INR (International Normalized Ratio) en vue d'une chirurgie à risque hémorragique. L'INR est un indicateur de la coagulation du plasma sanguin citraté en présence de thromboplastine calcique.

Le citrate est un anticoagulant réversible permettant de réaliser des tests d'hémostase.

La thromboplastine est le facteur III de la coagulation. La présence de calcium permet de l'activer lors des tests biologiques.

3.1.3. Les actes à risque hémorragique

Les actes chirurgicaux peuvent être :

- Sans risque hémorragique,
- A risque hémorragique modéré,
- A risque hémorragique élevé.

Les patients sont également classés selon leur traitement AAP :

- Patient en monothérapie AAP,
- Patient en bithérapie : Deux AAP.

➤ Les actes sans risque hémorragique

- Détartrage,
- Anesthésie locale.

➤ Les actes à risque hémorragique modéré

- Avulsion simple,
- Avulsions multiples dans un cadran,
- Chirurgie endodontique avec une lésion < 3cm,
- Chirurgie muco-gingivale,
- L'implant unitaire,
- Chirurgie pré-orthodontique,
- Biopsie ≤ 1cm.

➤ Les actes à risque hémorragique élevé

- Avulsions multiples sur plusieurs cadrans
- Avulsions de dents incluses
- Implants multiples
- Elévation de sinus
- Greffes osseuses
- Fermeture de communication bucco-sinusienne
- Exérèse des tumeurs bénignes > 1cm
- Chirurgie des tissus mous

Ce classement est disponible sur le site de la SFCO sous la forme d'un algorithme décisionnel aussi bien pour les patients traités par AAP, AVK ou par les nouveaux anticoagulants oraux (NACO).

3.1.4. La conduite à tenir

Une prise en charge adaptée permet de minimiser le risque hémorragique chez le patient sous AAP pendant :

- La phase opératoire,
- La phase post-opératoire.

Cette prise en charge nécessite un interrogatoire médical afin de cibler les antécédents ou les risques concernant le patient tels que le poids, l'âge, l'hypertension artérielle, l'insuffisance rénale, l'insuffisance hépatique ou encore l'addiction au tabac et à l'alcool. L'observance du traitement doit être également analysée.(95)

➤ Le patient sous monothérapie AAP

Tous les actes invasifs de chirurgie orale peuvent être effectués au sein du cabinet dentaire. Le patient ne doit pas arrêter son traitement. Les techniques d'hémostase locale sont mises en œuvre afin de limiter le saignement.

➤ Le patient sous bithérapie AAP

Il est nécessaire de déterminer le risque hémorragique selon la nature de l'acte chirurgical à réaliser.

❖ Pour une chirurgie à faible risque hémorragique

Le patient poursuit son traitement habituel et peut être pris en charge dans un cabinet dentaire. Les techniques d'hémostase locale sont mises en œuvre afin de limiter le saignement.

❖ Pour une chirurgie à haut risque hémorragique

Il est obligatoire d'obtenir l'avis du médecin prescripteur avant la réalisation de l'acte chirurgical. Une prise en charge en milieu hospitalier est obligatoire en cas de risque thrombotique élevé. Il est parfois nécessaire de reconduire l'acte à une date ultérieure.

C'est au médecin prescripteur de définir le risque thrombotique du patient. Selon ses recommandations il sera possible d'arrêter temporairement le traitement AAP et de prendre en charge le patient en ville en cas de risque thrombotique faible.

Chaque patient sous AAP doit avoir la possibilité de joindre le chirurgien-dentiste traitant en cas de complication post-opératoire telle qu'une hémorragie. Le patient doit également se situer à moins de cinquante kilomètres d'un centre hospitalier.

Le patient sous traitement AAP présente également d'autres risques tels que :

❖ Le risque anesthésique

Il est déconseillé de réaliser une anesthésie tronculaire à l'épine de Spix afin d'éviter la survenue d'un hématome pharyngé expansif.

Il est conseillé d'utiliser un vasoconstricteur type adrénaline afin de diminuer l'hémorragie au point d'injection.

❖ Les risques médicamenteux

Tous les AINS sont déconseillés chez les patients sous AAP. Ceci permet de diminuer le taux de survenue d'ulcères gastriques et d'hémorragies internes non contrôlées.

L'utilisation des AIS engendre une élimination accrue du Kardégic® ou de l'Aspégic®. Son utilisation nécessite une surveillance du patient après la fin du traitement par AIS.

Le fluconazole ainsi que l'érythromycine et la clarithromycine sont déconseillés chez les patients sous Clopidogrel® afin d'éviter les interactions médicamenteuses. En effet ils inhibent le cytochrome P450 3A4 nécessaire au métabolisme du Clopidogrel®.(96)

DISCUSSION

La progression dans le domaine de la recherche sur l'hémostase primaire est en constante évolution. Les nombreuses voies de signalisation montrent toute la complexité d'une plaquette au sein de laquelle chaque voie mise en avant fait partie d'un système complexe en interaction constante.

Les complexes d'adhésion plaquettaire possèdent une structure connue cependant les protéines intervenant sur leur portion intra-cellulaire sont nombreuses. En effet les liens entre la calmoduline, la filamine ou encore la protéine 14-3-3 ζ restent de nos jours encore peu connus et nécessitent un approfondissement quant aux interactions qu'elles sont susceptibles d'engendrer avec les récepteurs d'adhésion plaquettaire. Le récepteur GPIb-IX-V présente une fonction principalement hémostatique cependant il serait également impliqué lors de la propagation des métastases au niveau vasculaire ce qui en fait une cible d'étude encore plus surprenante.

Les mécanismes de l'activation plaquettaire sont les cibles majeures des médicaments en cours d'utilisation. L'évolution des molécules pharmacologiques permet d'améliorer l'efficacité des traitements antithrombotiques tout en minimisant les effets secondaires tels que les hémorragies. Les récepteurs PAR(s) font l'objet d'études cliniques suite à l'obtention de deux nouvelles molécules pharmacologiques que sont le Vorapaxar et l'Atopaxar. L'Atopaxar montre bien les difficultés pour obtenir un médicament dont les effets secondaires sont minimales. En effet, l'étude de ce médicament est pour le moment arrêtée en phase II suite à l'augmentation du risque hémorragique.

La progression constante des connaissances sur les structures protéiques a permis de mettre en évidence une cible thérapeutique qu'est la glycoprotéine IIb-IIIa. Au carrefour de l'activation plaquettaire cette protéine semble être la cible prometteuse d'anticorps monoclonaux tel que l'anticorps anti domaine PSI. Les premiers essais ont été réalisés sur le modèle murin in vivo et chez l'Homme in vitro. Les résultats sont prometteurs mais cet anticorps doit encore passer les barrières des phases cliniques avant de pouvoir être distribué à la population générale.

CONCLUSION

L'hémostase primaire représente la première ligne de défense face aux lésions vasculaires. Cette défense est assurée par l'expression de nombreuses protéines et récepteurs afin d'engendrer la formation du clou plaquettaire. Les plaquettes sont les cellules effectrices de la formation du thrombus grâce à leurs interactions avec le sous-endothélium des vaisseaux. Les mécanismes d'adhésion, d'activation et d'agrégation plaquettaire sont le résultat de plusieurs cascades biochimiques intimement intriquées.

Les découvertes récentes ont pour objet d'étude les récepteurs plaquettaires. Ils sont la cible de nombreuses molécules pharmacologique en cours d'utilisation chez les patients. Néanmoins les effets secondaires sont toujours présents et nécessitent une recherche approfondie afin de minimiser le risque hémorragique du patient.

Les cascades biochimiques mises à l'œuvre sont également un sujet de recherche prometteur. De nombreuses cascades interagissent entre elles. Une meilleure compréhension de ces mécanismes pourrait aboutir à l'obtention d'une molécule pharmacologique spécifique sans modifier la numération plaquettaire ni augmenter le risque hémorragique.

D'autre part l'amélioration des connaissances concernant la structure des récepteurs est un point clé de la recherche. En effet ces récepteurs ne sont pas uniquement présents au sein des plaquettes. Ainsi la compréhension de leur mécanisme d'activation et de leur rôle permettrait de réaliser des découvertes pour d'autres types cellulaires. Le récepteur GPIb-IX-V, exclusivement exprimé chez les plaquettes, serait également impliqué dans les processus inflammatoires ou encore de création des métastases au niveau vasculaire. Il est actuellement reconnu que les plaquettes possèdent un rôle thrombotique majeur. Cependant, d'autres fonctions ont été récemment découvertes et positionnent les plaquettes comme une cible intéressante de la recherche scientifique.

La connaissance des mécanismes de l'hémostase permet d'améliorer continuellement la prise en charge des patients. En effet, l'introduction de nouvelles molécules pharmacologiques permet de minimiser les risques hémorragiques inhérents à l'activité du chirurgien-dentiste. Les recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS) ainsi que la mise à jour des synthèses réalisées par la SFCO permettent de réaliser des actes chirurgicaux en toute sécurité selon des protocoles d'évaluation et de reconnaissance des risques hémorragiques au sein du cabinet dentaire. Ces algorithmes décisionnels sont reconnus et validés par les experts dans ce domaine. Toutes ces informations sont disponibles librement en ligne.

De par le caractère évolutif des recommandations il est nécessaire pour le chirurgien-dentiste d'actualiser ses connaissances durant son exercice afin d'améliorer la prise en charge des patients. Cette actualisation est, de plus, facilitée par le travail réalisé en amont par la SFCO.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Tomaiuolo M, Brass LF, Stalker TJ. Regulation of Platelet Activation and Coagulation and Its Role in Vascular Injury and Arterial Thrombosis. *Interv Cardiol Clin.* janv 2017;6(1):1-12.
2. Ribatti D, Crivellato E. Giulio Bizzozzero and the discovery of platelets. *Leuk Res.* 1 oct 2007;31(10):1339-41.
3. Patel SR, Hartwig JH, Italiano JE. The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. *J Clin Invest.* 1 déc 2005;115(12):3348-54.
4. Debili N, Coulombel L, Croisille L, Katz A, Guichard J, Breton-Gorius J, et al. Characterization of a bipotent erythro-megakaryocytic progenitor in human bone marrow. *Blood.* 15 août 1996;88(4):1284-96.
5. Hitchcock IS, Kaushansky K. Thrombopoietin from beginning to end. *Br J Haematol.* avr 2014;165(2):259-68.
6. Guo T, Wang X, Qu Y, Yin Y, Jing T, Zhang Q. Megakaryopoiesis and platelet production: insight into hematopoietic stem cell proliferation and differentiation. *Stem Cell Investig.* 2015;2:3.
7. Woolthuis CM, Park CY. Hematopoietic stem/progenitor cell commitment to the megakaryocyte lineage. *Blood.* 10 mars 2016;127(10):1242-8.
8. Ru Y-X, Zhao S-X, Dong S-X, Yang Y-Q, Eyden B. On the maturation of megakaryocytes: a review with original observations on human in vivo cells emphasizing morphology and ultrastructure. *Ultrastruct Pathol.* avr 2015;39(2):79-87.
9. Eckly A, Heijnen H, Pertuy F, Geerts W, Proamer F, Rinckel J-Y, et al. Biogenesis of the demarcation membrane system (DMS) in megakaryocytes. *Blood.* 6 févr 2014;123(6):921-30.
10. Therman E, Sarto GE, Stubblefield PA. Endomitosis: a reappraisal. *Hum Genet.* 1983;63(1):13-8.
11. Vitrat N, Cohen-Solal K, Pique C, Le Couedic JP, Norol F, Larsen AK, et al. Endomitosis of human megakaryocytes are due to abortive mitosis. *Blood.* 15 mai 1998;91(10):3711-23.
12. Eble JA, Niland S. The extracellular matrix of blood vessels. *Curr Pharm Des.* 2009;15(12):1385-400.
13. Wachowicz B, Morel A, Miller E, Saluk J. The physiology of blood platelets and changes of their biological activities in multiple sclerosis. *Acta Neurobiol Exp (Warsz).* 2016;76(4):269-81.
14. Gremmel T, Frelinger AL, Michelson AD. Platelet Physiology. *Semin Thromb Hemost.* avr 2016;42(3):191-204.
15. White JG, Escolar G. Current concepts of platelet membrane response to surface activation. *Platelets.* 1993;4(4):175-89.
16. Ghoshal K, Bhattacharyya M. Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:781857.

17. South K, Freitas MO, Lane DA. A Model for the Conformational Activation of the Structurally Quiescent Metalloprotease ADAMTS13 by Von Willebrand Factor. *J Biol Chem.* 16 févr 2017;
18. Briquet-Laugier V, Golli NE, Rosa J-P. Le facteur plaquettaire 4 (PF4) : un outil pour comprendre le stockage granulaire des protéines sécrétrices dans les mégacaryocytes et les cellules endothéliales. *Hématologie.* 20 déc 2002;8(5):349-58.
19. Löf A, Müller JP, Brehm MA. A Biophysical View on von Willebrand Factor Activation. *J Cell Physiol.* 3 mars 2017;
20. Löf A, Müller JP, Benoit M, Brehm MA. Biophysical approaches promote advances in the understanding of von Willebrand factor processing and function. *Adv Biol Regul.* janv 2017;63:81-91.
21. Walford G, Loscalzo J. Nitric oxide in vascular biology. *J Thromb Haemost JTH.* oct 2003;1(10):2112-8.
22. Sase K, Michel T. Expression of constitutive endothelial nitric oxide synthase in human blood platelets. *Life Sci.* 1995;57(22):2049-55.
23. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* juill 1990;87(13):5193-7.
24. Kobayashi T, Ushikubi F, Narumiya S. Amino acid residues conferring ligand binding properties of prostaglandin I and prostaglandin D receptors. Identification by site-directed mutagenesis. *J Biol Chem.* 11 août 2000;275(32):24294-303.
25. Parente L, Perretti M. Advances in the pathophysiology of constitutive and inducible cyclooxygenases: two enzymes in the spotlight. *Biochem Pharmacol.* 15 janv 2003;65(2):153-9.
26. Smyth EM, FitzGerald GA. Human prostacyclin receptor. *Vitam Horm.* 2002;65:149-65.
27. Cavallini L, Coassin M, Borean A, Alexandre A. Prostacyclin and sodium nitroprusside inhibit the activity of the platelet inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and promote its phosphorylation. *J Biol Chem.* 8 mars 1996;271(10):5545-51.
28. Hathaway DR, Eaton CR, Adelstein RS. Regulation of human platelet myosin light chain kinase by the catalytic subunit of cyclic AMP-dependent protein kinase. *Nature.* 21 mai 1981;291(5812):252-6.
29. Aszódi A, Pfeifer A, Ahmad M, Glauner M, Zhou XH, Ny L, et al. The vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) is involved in cGMP- and cAMP-mediated inhibition of agonist-induced platelet aggregation, but is dispensable for smooth muscle function. *EMBO J.* 4 janv 1999;18(1):37-48.
30. Wise H, Wong YH, Jones RL. Prostanoid Signal Integration and Cross Talk. *Neurosignals.* 2002;11(1):20-8.
31. Prostacyclin inhibits platelet aggregation induced by phorbol ester or Ca²⁺ ionophore at steps distal to activation of protein kinase C and Ca²⁺-dependent protein kinases. [Internet]. [cité 2 avr 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1138323/>

32. Würtz M, Kristensen SD, Hvas A-M, Grove EL. Pharmacogenetics of the antiplatelet effect of aspirin. *Curr Pharm Des.* 2012;18(33):5294-308.
33. Lhermusier T, Chap H, Payrastre B. Platelet membrane phospholipid asymmetry: from the characterization of a scramblase activity to the identification of an essential protein mutated in Scott syndrome. *J Thromb Haemost JTH.* oct 2011;9(10):1883-91.
34. Lhermusier T, Chap H, Payrastre B. Platelet membrane phospholipid asymmetry: from the characterization of a scramblase activity to the identification of an essential protein mutated in Scott syndrome. *J Thromb Haemost JTH.* oct 2011;9(10):1883-91.
35. Gruba SM, Koseoglu S, Meyer AF, Meyer BM, Maurer-Jones MA, Haynes CL. Platelet membrane variations and their effects on δ -granule secretion kinetics and aggregation spreading among different species. *Biochim Biophys Acta.* juill 2015;1848(7):1609-18.
36. Gardiner EE, Andrews RK. Structure and function of platelet receptors initiating blood clotting. *Adv Exp Med Biol.* 2014;844:263-75.
37. Fox JE, Reynolds CC, Morrow JS, Phillips DR. Spectrin is associated with membrane-bound actin filaments in platelets and is hydrolyzed by the Ca^{2+} -dependent protease during platelet activation. *Blood.* févr 1987;69(2):537-45.
38. Thon JN, Italiano JE. Platelets: production, morphology and ultrastructure. *Handb Exp Pharmacol.* 2012;(210):3-22.
39. Actin dynamics in platelets. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 29 mai 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12019562>
40. Sadoul K. New explanations for old observations: marginal band coiling during platelet activation. *J Thromb Haemost JTH.* mars 2015;13(3):333-46.
41. De La Cruz EM, Gardel ML. Actin Mechanics and Fragmentation. *J Biol Chem.* 10 juill 2015;290(28):17137-44.
42. Shin E-K, Park H, Noh J-Y, Lim K-M, Chung J-H. Platelet Shape Changes and Cytoskeleton Dynamics as Novel Therapeutic Targets for Anti-Thrombotic Drugs. *Biomol Ther.* 1 mai 2017;25(3):223-30.
43. Sorrentino S, Studt J-D, Horev MB, Medalia O, Sapra KT. Toward correlating structure and mechanics of platelets. *Cell Adhes Migr.* 2 sept 2016;10(5):568-75.
44. Aburima A, Walladbegi K, Wake JD, Naseem KM. cGMP signalling inhibits platelet shape change through regulation of the RhoA-Rho Kinase-MLC phosphatase signalling pathway. *J Thromb Haemost JTH.* 16 mai 2017;
45. Yadav S, Storrie B. The cellular basis of platelet secretion: Emerging structure/function relationships. *Platelets.* mars 2017;28(2):108-18.
46. Gremmel T, Frelinger AL, Michelson AD. Platelet Physiology. *Semin Thromb Hemost.* avr 2016;42(3):191-204.
47. Garcia-Souza LF, Oliveira MF. Mitochondria: biological roles in platelet physiology and pathology. *Int J Biochem Cell Biol.* mai 2014;50:156-60.

48. Zharikov S, Shiva S. Platelet mitochondrial function: from regulation of thrombosis to biomarker of disease. *Biochem Soc Trans.* 1 févr 2013;41(1):118-23.
49. Ruggeri ZM. Platelet adhesion under flow. *Microcirc N Y N* 1994. janv 2009;16(1):58-83.
50. Schäfer A, Bauersachs J. Endothelial dysfunction, impaired endogenous platelet inhibition and platelet activation in diabetes and atherosclerosis. *Curr Vasc Pharmacol.* janv 2008;6(1):52-60.
51. Sangkuhl K, Shuldiner AR, Klein TE, Altman RB. Platelet aggregation pathway. *Pharmacogenet Genomics.* août 2011;21(8):516-21.
52. Estevez B, Du X. New Concepts and Mechanisms of Platelet Activation Signaling. *Physiol Bethesda Md.* mars 2017;32(2):162-77.
53. Xu XR, Carrim N, Neves MAD, McKeown T, Stratton TW, Coelho RMP, et al. Platelets and platelet adhesion molecules: novel mechanisms of thrombosis and anti-thrombotic therapies. *Thromb J.* 2016;14(Suppl 1):29.
54. Li R, Emsley J. The organizing principle of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex. *J Thromb Haemost JTH.* avr 2013;11(4):605-14.
55. Andrews RK, Gardiner EE. Basic mechanisms of platelet receptor shedding. *Platelets.* 25 oct 2016;1-6.
56. Maurer E, Tang C, Schaff M, Bourdon C, Receveur N, Ravanat C, et al. Targeting platelet GPIIb/IIIa reduces platelet adhesion, GPIIb/IIIa signaling and thrombin generation and prevents arterial thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* juin 2013;33(6):1221-9.
57. Glycoprotein Ib-IX-V Complex Transmits Cytoskeletal Forces That Enhance Platelet Adhesion. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 13 juin 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27508443>
58. Cheng H-C, Qi RZ, Paudel H, Zhu H-J. Regulation and Function of Protein Kinases and Phosphatases [Internet]. *Enzyme Research.* 2011 [cité 18 sept 2017]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/er/2011/794089/>
59. Ozaki Y, Suzuki-Inoue K, Inoue O. Platelet receptors activated via multimerization: glycoprotein VI, GPIIb-IX-V, and CLEC-2. *J Thromb Haemost JTH.* juin 2013;11 Suppl 1:330-9.
60. Cipolla L, Consonni A, Guidetti G, Canobbio I, Okigaki M, Falasca M, et al. The proline-rich tyrosine kinase Pyk2 regulates platelet integrin α IIb β 3 outside-in signaling. *J Thromb Haemost JTH.* févr 2013;11(2):345-56.
61. Peyvandi F, Scully M, Kremer Hovinga JA, Cataland S, Knöbl P, Wu H, et al. Caplacizumab for Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *N Engl J Med.* 11 févr 2016;374(6):511-22.
62. Zheng L, Mao Y, Abdelgawwad MS, Kocher NK, Li M, Dai X, et al. Therapeutic efficacy of the platelet glycoprotein Ib antagonist anfibatide in murine models of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Adv.* 29 nov 2016;1:75-83.

63. Jung SM, Moroi M, Soejima K, Nakagaki T, Miura Y, Berndt MC, et al. Constitutive Dimerization of Glycoprotein VI (GPVI) in Resting Platelets Is Essential for Binding to Collagen and Activation in Flowing Blood. *J Biol Chem*. 24 août 2012;287(35):30000-13.
64. Dunster JL, Mazet F, Fry MJ, Gibbins JM, Tindall MJ. Regulation of Early Steps of GPVI Signal Transduction by Phosphatases: A Systems Biology Approach. *PLoS Comput Biol*. nov 2015;11(11):e1004589.
65. Carrim N, Walsh TG, Consonni A, Torti M, Berndt MC, Metharom P. Role of focal adhesion tyrosine kinases in GPVI-dependent platelet activation and reactive oxygen species formation. *PloS One*. 2014;9(11):e113679.
66. Gupta S, Braun A, Morowski M, Premisler T, Bender M, Nagy Z, et al. CLP36 is a negative regulator of glycoprotein VI signaling in platelets. *Circ Res*. 9 nov 2012;111(11):1410-20.
67. Novel antiplatelet drug revacept (Dimeric Glycoprotein VI-Fc) specifically and efficiently inhibited collagen-induced platelet aggregation without ... - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 25 sept 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21502572>
68. von Kügelgen I, Hoffmann K. Pharmacology and structure of P2Y receptors. *Neuropharmacology*. mai 2016;104:50-61.
69. Diamond SL, Purvis J, Chatterjee M, Flamm MH. Systems biology of platelet-vessel wall interactions. *Front Physiol*. 2013;4:229.
70. Zhang D, Gao Z-G, Zhang K, Kiselev E, Crane S, Wang J, et al. Two disparate ligand-binding sites in the human P2Y1 receptor. *Nature*. 16 avr 2015;520(7547):317-21.
71. Sluyter R. P2X and P2Y receptor signaling in red blood cells. *Front Mol Biosci*. 2015;2:60.
72. Cattaneo M. P2Y12 receptors: structure and function. *J Thromb Haemost JTH*. juin 2015;13 Suppl 1:S10-16.
73. Stefanini L, Bergmeier W. CalDAG-GEFI and platelet activation. *Platelets*. 2010;21(4):239-43.
74. Sible AM, Nawarskas JJ. Cangrelor: A New Route for P2Y12 Inhibition. *Cardiol Rev*. juin 2017;25(3):133-9.
75. Tello-Montoliu A, Tomasello SD, Angiolillo DJ. Prasugrel. *Adv Cardiol*. 2012;47:39-63.
76. Achar S. Pharmacokinetics, drug metabolism, and safety of prasugrel and clopidogrel. *Postgrad Med*. janv 2011;123(1):73-9.
77. Birkeland K, Parra D, Rosenstein R. Antiplatelet therapy in acute coronary syndromes: focus on ticagrelor. *J Blood Med*. 1 sept 2010;1:197-219.
78. Signal transduction by protease-activated receptors [Internet]. [cité 25 août 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2874842/>
79. Gurbel PA, Kuliopulos A, Tantry US. G-Protein–Coupled Receptors Signaling Pathways in New Antiplatelet Drug Development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. mars 2015;35(3):500-12.

80. Wojtukiewicz MZ, Hempel D, Sierko E, Tucker SC, Honn KV. Protease-activated receptors (PARs)—biology and role in cancer invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2015;34:775-96.
81. Flaumenhaft R, De Ceunynck K. Targeting PAR1: Now What? *Trends Pharmacol Sci.* août 2017;38(8):701-16.
82. Tello-Montoliu A, Tomasello SD, Ueno M, Angiolillo DJ. Antiplatelet therapy: thrombin receptor antagonists. *Br J Clin Pharmacol.* oct 2011;72(4):658-71.
83. Pan H, Boucher M, Kaunelis D. PAR-1 Antagonists: An Emerging Antiplatelet Drug Class. In: CADTH Issues in Emerging Health Technologies [Internet]. Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2016 [cité 25 sept 2017]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK391027/>
84. Mondoro TH, White MM, Jennings LK. Active GPIIb-IIIa conformations that link ligand interaction with cytoskeletal reorganization. *Blood.* 1 oct 2000;96(7):2487-95.
85. Sivaraman B, Latour RA. Delineating the Roles of the GPIIb/IIIa and GP-Ib-IX-V Platelet Receptors in Mediating Platelet Adhesion to Adsorbed Fibrinogen and Albumin. *Biomaterials.* août 2011;32(23):5365-70.
86. Floyd CN, Ferro A. The platelet fibrinogen receptor: from megakaryocyte to the mortuary. *JRSM Cardiovasc Dis.* 31 mai 2012;1(2).
87. Bennett JS. Structure and function of the platelet integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$. *J Clin Invest.* 1 déc 2005;115(12):3363-9.
88. Mehrbod M, Trisno S, Mofrad MRK. On the Activation of Integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$: Outside-in and Inside-out Pathways. *Biophys J.* 17 sept 2013;105(6):1304-15.
89. Calderwood DA, Campbell ID, Critchley DR. Talins and kindlins; partners in integrin-mediated adhesion. *Nat Rev Mol Cell Biol.* août 2013;14(8):503-17.
90. Wegener KL, Partridge AW, Han J, Pickford AR, Liddington RC, Ginsberg MH, et al. Structural Basis of Integrin Activation by Talin. *Cell.* 12 janv 2007;128(1):171-82.
91. Zhu G, Zhang Q, Reddy EC, Carrim N, Chen Y, Xu XR, et al. Integrin PSI domain has endogenous thiol isomerase function and is a novel target for anti-platelet therapy. *Blood.* 1 janv 2017;blood-2016-07-729400.
92. Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost JTH.* août 2005;3(8):1894-904.
93. Horellou M-H, Flaujac C, Thibault IG. Hémostase : physiologie et principaux tests d'exploration. Datatraitement-49382 [Internet]. 6 mai 2012 [cité 4 oct 2017]; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/689865#N103E2>
94. ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 4 oct 2017]. Disponible sur: http://ansm.sante.fr/searchengine/general_search?SearchText=Antiagr%C3%A9gant+plaquette+dentaire&ok=Valider
95. Recommandations - SFCO [Internet]. [cité 4 oct 2017]. Disponible sur: <http://societechirorale.com/fr/sfco/recommandations-veille/recommandations>

96. Akiyoshi T, Ito M, Murase S, Miyazaki M, Guengerich FP, Nakamura K, et al. Mechanism-based inhibition profiles of erythromycin and clarithromycin with cytochrome P450 3A4 genetic variants. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2013;28(5):411-5.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURE 1: SCHEMA DE LA LIGNEE CELLULAIRE PLAQUETTAIRE..	19
FIGURE 2: SCHEMA D'UN MEGACARYOCYTE. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).....	20
FIGURE 3: SCHEMA DE L'ENDOMITOSE. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).	21
FIGURE 4: VUE SCHEMATIQUE D'UN VAISSEAU SANGUIN EN COUPE. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE). ..	23
FIGURE 5: PLAQUETTE DISCOÏDE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A HAUTE RESOLUTION (15).	25
FIGURE 6: STRUCTURE SCHEMATIQUE DU FACTEUR VON WILLEBRAND (20).	27
FIGURE 7: STRUCTURE DIMERISEE DU FACTEUR VON WILLEBRAND (20).....	27
FIGURE 8: SCHEMA DU GLYCOCALYX PLAQUETTAIRE. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).....	31
FIGURE 9: SCHEMA DE L'ACTIVITE ACTINE/MYOSINE IIA. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE)	37
FIGURE 10: SCHEMA DES MICROTUBULES POLYMERISES. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).	38
FIGURE 11: SCHEMA REPRESENTANT LES TEMPS DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE.....	43
FIGURE 12: DIAGRAMME EN RUBAN DE LA SOUS-UNITE GPIBA (42).	47
FIGURE 13: DIAGRAMME EN RUBAN EN VUE SUPERIEURE DU COMPLEXE GPIB-IX (42).....	48
FIGURE 14: DIAGRAMME EN RUBAN DU COMPLEXE GPIB-IX-V (42).	50
FIGURE 15: SCHEMA DU MECANISME D'ACTIVATION DU SIGNAL CALCIQUE. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).....	51
FIGURE 16: SCHEMA DU COMPLEXE GPVI/FCR γ . (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).....	55
FIGURE 17: RESUME DE L'ACTIVATION DE LA GLYCOPROTEINE VI. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE)....	56
FIGURE 18: SCHEMA STRUCTUREL DU RECEPTEUR P2Y ₁ R. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).	59
FIGURE 19: SCHEMA STRUCTUREL DU RECEPTEUR P2Y ₁₂ R. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).	61
FIGURE 20: SCHEMATISATION DES CASCADES D'ACTIVATION DES RECEPTEURS P2Y ₁ R ET P2Y ₁₂ R. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).	63
FIGURE 21: SCHEMA DU RECEPTEUR PAR1 ACTIVE. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).....	67
FIGURE 22: SCHEMA DES CASCADES D'ACTIVATION MEDIEES PAR LES RECEPTEURS PAR(s). (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).	69
FIGURE 23: SCHEMA DE LA GPIIb-IIIa SOUS SA FORME ETENDUE. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).	74
FIGURE 24: SCHEMA GENERAL DE L'ACTIVATION DE LA GPIIb-IIIa. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE)....	76
FIGURE 25: SCHEMA DE L'AGREGATION PLAQUETTAIRE. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).	79
FIGURE 26: SCHEMA DES VOIES D'INACTIVATION MEDIEES PAR LE NO.(81) (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).....	81
FIGURE 27: METABOLISME DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE PLAQUETTAIRE. (ICONOGRAPHIE PERSONNELLE).....	83

INDEX DES TABLEAUX

TABLEAU 1: TABLEAU RECAPITULATIF DES PROTEINES STOCKEES AU SEIN D'UN GRANULE A.....	40
TABLEAU 2: LES PRINCIPAUX AAP RENCONTRES CHEZ LES PATIENTS.....	86

Au cœur de l'hémostase primaire : Réactualisation des connaissances / **TURPIN Jérôme**.- p. 103 : ill. 27 ; réf. 96.

Domaines : Pharmacologie ; Sciences fondamentales.

Mots clés Rameau: Hémostase ; Médicaments de l'hémostase ; Pharmacologie hématologique ; Agrégation plaquettaire ; Plaquettes sanguines.

Mots clés FMeSH: Hémostase ; Activation plaquettaire ; Adhésivité plaquettaire ; Hémostase – effets des médicaments des substances chimiques.

Résumé de la thèse :

Les plaquettes sont les principales cellules de l'hémostase primaire. Celles-ci sont recrutées au niveau des sites lésés et interagissent avec les protéines du tissu vasculaire. Les plaquettes subissent différentes étapes que sont l'adhésion, l'activation et l'agrégation afin d'aboutir à la formation du clou plaquettaire. Ces étapes sont médiées par l'interaction des protéines du tissu vasculaire avec les récepteurs plaquettaires.

Cette thèse représente une mise à jour des connaissances des mécanismes de l'hémostase primaire ainsi qu'une ouverture sur les médicaments en cours d'essais cliniques.

Les découvertes récentes ont pour objet d'étude les récepteurs plaquettaires. Ils sont la cible de nombreuses molécules pharmacologiques en cours d'utilisation chez les patients. Néanmoins les effets secondaires sont toujours présents et nécessitent une recherche approfondie afin de minimiser le risque hémorragique du patient.

L'introduction de nouvelles molécules pharmacologiques permet de minimiser les risques hémorragiques inhérents à l'activité du chirurgien-dentiste. Les recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS) ainsi que l'ensemble des mises à jour réalisées par la SFCO permettent de réaliser des actes chirurgicaux en toute sécurité selon des protocoles d'évaluation et de reconnaissance des risques hémorragiques au sein du cabinet dentaire.

JURY :

Président : Monsieur le professeur Guillaume PENEL

**Assesseurs : Monsieur le docteur Laurent NAWROCKI
Madame le docteur Cécile OLEJNIK
Madame le docteur Coralie LACHERETZ**