Université de Lille
Année Universitaire 2020/2021

Faculté de Pharmacie de Lille

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 7 Juillet 2021
Par Madame KITEL Caroline

INFLUENCE DU GROUPE ABO ET DES GLYCOSYLTRANSFERASES DANS LES PATHOLOGIES DE L'HEMOSTASE DONT LA MALADIE DE WILLEBRAND

Membres du jury :

Président :
Madame le Professeur DUPONT Annabelle, PU-PH, CHU de LILLE

Directeur, Conseiller de thèse :
Madame le Docteur JEANPIERRE Emmanuelle, PH, CHU de LILLE

Assesseurs :
Madame le Professeur SUSEN Sophie, PU-PH, CHU de LILLE
Monsieur le Docteur ZAWADZKI Christophe, PH, CHU de LILLE

Faculté de Pharmacie
de Lille

Université de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
☎ 03.20.96.40.40 - 🖷 : 03.20.96.43.64

Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective	Régis BORDET
Vice-présidente ressources	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSE	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN
Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques

M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique

Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques

Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	Biomathématiques
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale
M.	RUEZ	Richard	Hématologie
M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurye	Immunologie

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64

http://pharmacie.univ-lille2.fr

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

REMERCIEMENTS

A mon jury,

Madame le Professeur Annabelle DUPONT-PRADO,

Vous me faites l'honneur d'accepter d'être la présidente de cette thèse. Vous m'avez donné la passion pour l'hématologie et plus particulièrement l'hémostase au cours de mes années d'études à la faculté de pharmacie. Je vous remercie pour votre disponibilité et vos conseils dont vous avez toujours fait preuve à mon égard. Soyez assurée de ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

A mes assesseurs,

Madame le Professeur Sophie SUSEN,

Je suis très reconnaissante de la confiance que vous m'accordez depuis mon premier stage en hémostase. Vous m'avez permis de consolider mes connaissances et confirmer ma passion pour l'hémostase. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

Monsieur le Docteur Christophe ZAWADZKI,

Vous me faites l'honneur de juger cette thèse et de l'intérêt porté à ce travail. Je vous remercie pour l'attention et la disponibilité que vous m'accordez, ainsi pour les nombreux conseils avisés en génétique et la relecture de cette thèse. Veuillez trouver l'expression de mes salutations les plus respectueuses.

Madame le Docteur Emmanuelle JEANPIERRE,

A ma directrice de thèse, je suis très reconnaissante de la confiance que vous m'accordez pour ce travail et de votre disponibilité. Je vous remercie pour l'excellente formation et aussi pour les nombreux conseils que vous m'avez donnés au cours de la rédaction. Soyez assurée de toute ma considération.

A l'ensemble des personnes ayant contribué à ce travail

Et à ma formation en biologie médicale dans le laboratoire d'Hémostase,

Aux biologistes du laboratoire, je remercie Anne, Justine, Fanny et Antoine pour leur disponibilité et leur enseignement.

Merci à l'ensemble des Hémobiologistes du CRTH du CHU de Lille, notamment Camille et Audrey, pour leur enseignement.

Dédicace particulière à l'équipe de biologie moléculaire : Simon, Bertrand et Valérie.

Je remercie personnellement Sylvie, pour son soutien, et j'espère que l'on continuera nos conversations du soir.

Remerciements à l'ensemble des techniciens du Laboratoire : Alexandre, Anita, Jean-Claude, Laurence, Nathalie(s), Dominique, Anne, Morgane, Florence, Isabelle, Stéphanie, Cécile, Chantal, Odette, Margaux et Adèle pour leurs nombreux conseils et leurs formations sur les différentes techniques et automates.

Remerciement à Fanny D. pour sa disponibilité et ses nombreux conseils administratifs en tout genre.

Je remercie l'équipe de Recherche de J&K (Delphine, Michael et Christina) pour l'intégration dans leur équipe avant même d'avoir commencé le Master 2.

<u>A mes proches,</u>

A mes grands-parents, Dziadzia j'espère que là où tu es, tu es fier de moi. Tu m'as inculqué la valeur du travail et le sens des responsabilités. Je te serai éternellement reconnaissante. A Tina, je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu fais pour moi et tout l'amour que tu me donnes chaque jour.

A ma Mère, tu es depuis le début l'une de mes plus grandes supportrices. J'espère que ce travail te rendra d'autant plus fière de moi.

A ma sœur et son mari, merci de toujours croire en moi.

A Cédric, merci d'être à mes côtés depuis le début de mes études. Tu me rends plus forte chaque jour. Encore merci de tout ce que tu fais pour moi.

A la famille Tourdot, merci de faire partie de votre famille et pour tout ce que vous faites pour moi. Un grand merci à Christelle d'avoir relu ma thèse.

A David et Anne, malgré la distance, vous me soutenez depuis le début et vous êtes toujours présents lors des moments les plus difficiles de ma vie.

A ma famille de cœur, Rihanna, Gatien alias Gatinou et Maelou, vous avez été présents depuis les premiers jours d'internat, et sans vous l'internat n'aurait pas été le même. Je sais que je pourrai toujours compter sur vous (Ps : Merci à Alicia K. d'avoir annulé son concert pour ma thèse).

A Maya, pour être toujours à mes côtés malgré nos chemins différents en pharmacie et merci de m'avoir soutenue pendant toutes ces années d'études de Pharmacie.

A Caro D, pour tous les bons moments shopping « Sézane » passés à tes côtés, tu es une amie essentielle.

A GishGish et Geoffrey, mes confidents du CBP, merci de me supporter chaque jour mais surtout de me soutenir.

Merci à Lulu d'être présente depuis le début de mon internat, tu es toujours là et tu es incroyable !

Merci à Ambroise pour son soutien et tous ses conseils pour mon futur projet, le master 2.

A l'ensemble de mes co-internes, notamment Alice, Clara, Michael, Quentin, Thibault, je remercie chacun d'entre vous, pour les nombreuses sorties, soirées et activités que l'on a partagés ensemble.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS **11**

TABLE DES MATIERES **14**

LISTE DES ABREVIATIONS **17**

INTRODUCTION **20**

OBJECTIF **21**

LE SYSTEME ABO **22**

1. Découverte du groupe ABO 22
2. Mise au point terminologique 22
3. Phylogénétique et épidémiologie du groupe ABO 23
4. Génétique du système ABO 25
6. Expression des antigènes ABO 29
   - Sécréteurs/non sécréteurs 29
   - Antigènes ABO 29
   - Sous-groupes A : A1 et A2 30
   - Sous-groupe O : O1 et O2 31

LE FACTEUR VON WILLEBRAND **33**

1. Génétique du VWF 33
2. Relation structure-fonction 33
   - Rôle pro-hémostatique 33
     - Les complexes VWF-plaquettes 33
     - Stabilisation et transport du facteur VIII 34
     - Mégacaryocytopoïèse 34
   - Rôle pro-inflammatoire 34
   - Rôle anti-angiogénique 35
   - Rôle dans la prolifération cellulaire et apoptose 35
3. Synthèse du VWF 35
4. Glycosylation du VWF 37

5. Stockage et sécrétion du VWF 39
- Stockage du VWF 39
- Sécrétion du VWF 40
6. Clairance du VWF 40

FACTEURS INFLUENÇANT LE TAUX PLASMATIQUE DE VWF 42

- Généralités 42
- Environnement 43
- Ethnie 43
- Gène VWF 44
- Étude GWAS 44

RELATION ENTRE LE SYSTEME ABO ET LE FACTEUR VON WILLEBRAND...47

1. Groupe ABO et glycosylation du VWF 47
- Généralités 47
- Acteurs influençant le niveau de glycosylation 48
  - FUT1/FUT2 : 48
  - Locus du groupe sanguin ABO 49
2. Groupe ABO et sialylation du VWF 51
3. Groupe ABO et fonctionnalité du VWF 52
4. Groupe ABO et protéolyse du VWF 54
5. Groupe ABO et clairance du VWF 56
6. Groupe ABO et plaquettes 58
- Généralités 58
- Étude GAIT-2[(119)] 58
- Étude de Dunne et al. [(121)] 59
7. Groupe ABO et le complexe VWF-FVIII 60
- Généralités 60
- L'influence des variants sur le VWF : Ag et FVIII :C 61
8. Problématique du type 1 de VWD et les taux bas en VWF 63
- Maladie de Willebrand de type 1 63

- Les taux bas en VWF..... 64

DISCUSSION 67

CONCLUSION 71

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....73

LISTE DES ABREVIATIONS

aa	Acide aminé
ADAMTS13	A disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSpondin Domain Type1 repeats
ADN	Acide désoxyribonucléique
ASGPR	Asialo-glycoproteine
CK	Cysteine Knot
CLEC4M	Domaine de la lectine de type C, famille 4 membre M
dbRBC	Name database red blood cells name
FVIII :C	Facteur VIII plasmatique
FVIII	Facteur VIII
Gal	Galactose
GalNAc	N-acétylgalactosamine
GlcNAc	N-acétylglucosamine
GpIbα	Glycoprotéine plaquettaire Ibα
GR	Globules rouges
GRS	Score de risque génétique
GT	Glycosyltransférase
HPM	Haut poids moléculaire
ISTH	International Society of Thrombosis and Haemostasis
ISBT	International Society Blood Transfusion
Kb	Kilobases
LOD	Logarithm of odds (logarithme des probabilités)
LRP-1	Low density lipoprotein receptor-related protein 1
Man	Mannose

MGL	Macrophage-galactose-type-lectine
MS	Spectrométrie de masse
NETs	Neutrophil extracellular traps
Pb	Paire de bases
PNDS	Protocole national de diagnostic et de soins
PTT	Purpura thrombotique thrombocytopénique
QTL	Quantitative traits *loci*
RE	Réticulum endoplasmique
SCARA5	Récepteur piégeur de classe A, membre 5
SE	Sécréteurs
se	Non sécréteurs
sICAM-1	Molécule d'adhésion intercellulaire soluble-1
SIGLEC-5	Sialic acid-binding Ig-like lectin 5
SNV	variants mononucléotidiques
SNP	single nucleotide polymorphism
SR-A1	The scavenger receptor class A member I
STAB2	Stabilin 2
STX2	Syntaxine-2
STXBP5	Protéine 5 de liaison à la syntaxine
TC2N	Domaines nucléaire C2 en tandem
THPM	Très haut poids moléculaire
TV	Thromboses veineuses
TMs	Thrombomoduline soluble
VEGF-R2	Vascular endothelial growth factor receptor 2
VWD	Maladie de Willebrand
VWF	Facteur Von Willebrand

VWF:Ag	Antigène du facteur Willebrand
VWF:CB	Liaison du facteur Willebrand au collagèn binding
VWF:pp	Propeptide Willebrand
VWF:Rco	Activité du facteur Willebrand à la ristocétine
WBP	Corps de Weibel Palade
α-1,2-FucT	α-1,2-fucosyltransferase

INTRODUCTION

Le terme « groupe sanguin » a été retenu pour décrire les différents antigènes à la surface des globules rouges (GR). La présence des anticorps spécifiques dans le plasma d'espèces identiques ou différentes, est la conséquence de la présence d'antigènes à la surface des GR. Ces antigènes ou déterminants antigéniques sont désignés par des lettres. Chacun de ces antigènes est exprimé grâce à un allèle situé sur un *locus* d'un gène[(1)].

A ce jour, chez l'Homme, on compte près de 38 systèmes de groupes sanguins, dont certains antigènes de groupes sanguins sont des glycoprotéines. Leur spécificité est en partie déterminée par un oligosaccharide (système ABO) ou une séquence d'acides aminés (MN, Kell, Duffy, Kidd, Diego). Il existe ainsi 45 gènes identifiés et séquencés (*International Society Blood Transfusion ISBT*). Tous ces antigènes de groupe sanguin sont classés par l'ISBT en 4 catégories : systèmes, collections, série 700 et série 901.

Les déterminants antigéniques du groupe sanguin jouent un rôle important, en raison de la production importante d'anticorps, et peuvent être à l'origine d'accidents transfusionnels ou d'accidents d'allo-immunisation fœto-maternelle. Mais ils peuvent également être impliqués dans les maladies cardiovasculaires, dans les pathologies infectieuses, mais aussi dans les pathologies de l'hémostase comme les pathologies thrombotiques ou hémorragiques (Maladie de Willebrand)[(2)]. Le facteur de von Willebrand (VWF) est influencé par le système ABO, grâce à l'expression des glycosyltransférases (GT) et de l'expression des déterminants antigéniques à sa surface. En fonction du groupe sanguin, le système ABO aura plus ou moins un impact sur la glycosylation, la fonctionnalité, la protéolyse et la clairance du VWF, sur le FVIII et sur les plaquettes. Cette interaction montre un intérêt croissant pour prédire le risque thrombotique veineux (TV) ou hémorragique.

OBJECTIF

Le but de ce travail est de faire un état des lieux de la littérature sur l'influence du système sanguin ABO sur les pathologies de l'hémostase primaire, notamment la maladie de Willebrand, mais aussi de déterminer l'implication des sous-groupes A1, A2, O1, O2 dans l'interprétation d'un taux de VWF bas, chez les patients pour lesquels, aucun variant délétère du gène *VWF* n'a été retrouvé.

LE SYSTEME ABO

1. Découverte du groupe ABO

En 1901, le système sanguin ABO a été découvert par Karl Landsteiner, biologiste et médecin d'origine autrichienne. En séparant le sérum et les globules rouges (GR) du sang provenant de son personnel de laboratoire, il a mis en évidence différentes agglutinations entre les hématies et les sérums chez ces individus sains. Il a ensuite classé les sérums en 3 groupes (en les notant positif ou négatif en fonction des réactions d'agglutination). Le sérum du « groupe A » réagit avec les hématies du « groupe B » mais pas avec les hématies du « groupe A ». Les hématies du « groupe A » réagissent de façon identique avec le sérum du « groupe B ». Pour le troisième « groupe C », le sérum agglutine avec les hématies du « groupe A et B », alors que les hématies du « groupe C » ne réagissent pas avec les « groupes A et B ». Il en conclut qu'il existe deux sortes d'« agglutinines» différentes : une dans le « groupe A », une autre dans le « groupe B » et deux dans le « groupe C » et que les hématies sont insensibles aux « agglutinines » de leur propre sérum. A cette époque, ce système comprend 3 « agglutinines » pour désigner les antigènes à la surface des GR: A, B et C[(3)]. Ce n'est qu'en 1910, que Emil Von Dungern et Ludwig Hirszfeld, nomment un quatrième « groupe AB » et rebaptisent le « groupe C » de Landsteiner en groupe « O » ou « zéro » pour indiquer l'absence d'antigène. Les travaux de Karl Landsteiner sur le système ABO furent récompensés par le Prix Nobel de Médecine en 1930[(4)].

2. Mise au point terminologique

En sérologie, on détermine des groupes sanguins qui permettent de donner un phénotype ; en langage courant, on est de « groupe A, B, O ou AB ». Alors qu'en biologie moléculaire, le génotype est la somme de deux haplotypes (un groupe d'allèle de différents *loci* situés sur un même chromosome et transmissible ensemble). Un haplogroupe est un groupe d'haplotypes. Selon les lois de Mendel, le phénotype d'un groupe sanguin est la résultante de l'expression de deux allèles (l'allèle maternel et l'allèle paternel) qui constituent le génotype[(5)].

D'après les recommandations de International Society Blood Transfusion (ISBT 001)[(6)], les groupes sanguins les plus fréquents s'écrivent différemment en fonction du phénotype (groupe) et du génotype (somme haplotypes). Le **Tableau 1** permet de faire le point sur la nomenclature du système ABO. A tort dans le langage courant, on parle de sous-groupes O1 et O2 alors que normalement, on devrait parler de phénotype O (sans les distinguer) et de génotype *ABO*O.01.01,* O01 **(O^1)** et *ABO*O.02.01,* O03 **(O^2)** respectivement.

Phénotype	O			A_1	A_2	B
Nom de l'Allèle	*ABO*O.01.01*	*ABO*O.01.02*	*ABO*O.02.01*	*ABO*A1.02*	*ABO*A2.01*	*ABO*B.01*
Nom des globules rouges de la base de données de l'ISBT	O01 **(O^1)**	O02 **(O^{1v})**	O03 **(O^2)**	-	-	-

Tableau 1 : Nomenclature du système ABO (ISBT 001) [6]

Pour simplifier la lecture de cette thèse bibliographique, nous allons parler de génotype ***O1***, ***O2***, ***O1v***, ***A1***, ***A2*** *et* ***B*** au lieu de la nomenclature classique respectivement *ABO*O.01.01, ABO*O.02.01, ABO*O.01.02, ABO*A1.02, ABO*A2.01 et ABO*B.01*.

3. Phylogénétique et épidémiologie du groupe ABO

La répartition des groupes sanguins dans la population mondiale est liée à la diversité génétique née de variants qui se sont accumulés avec le temps, et notamment grâce à la sélection naturelle. En effet, chez l'Homme et les autres primates, les variants *A/B*, qui seraient apparus il y a au moins 20 millions d'années, sont encore présents chez 17 espèces différentes de primates.

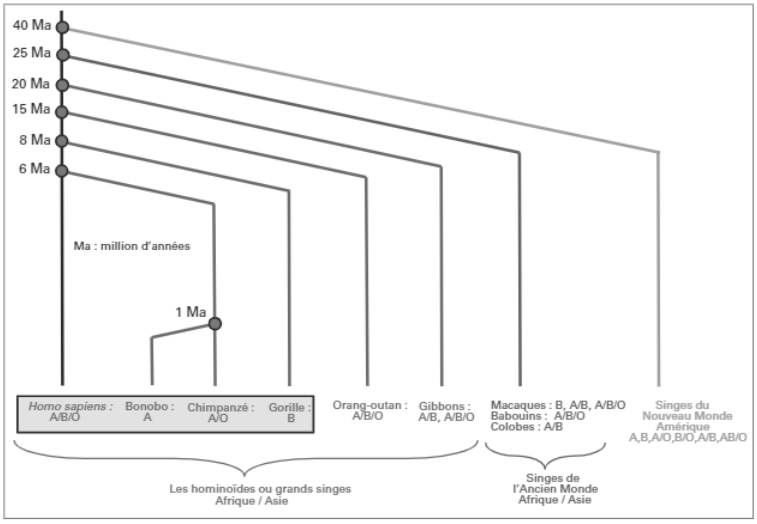


Figure 1: Phylogénétique du groupe ABO chez les primates [7]

La substitution de deux aa dans l'exon 7 est le mécanisme moléculaire qui différencie les glycosyltransférases (GT) A et B. Au contraire l'allèle *O*, qui comporte de nombreux variants moléculaires, n'est jamais l'unique allèle chez toutes les espèces de primates **(Figure 1).** De plus, la distribution phylogénique du groupe ABO suggère que la cible de la sélection naturelle dépasse le GR pour prendre en compte l'interaction des pathogènes partagés par les primates et le tractus digestif. Par exemple, les grands singes sécrètent les antigènes ABH dans les fluides, épithélium digestif, cellules endothéliales et sur les GR comme les hommes sécréteurs (Se).

L'allèle *A* d'aujourd'hui n'est pas le même allèle que celui qui existait, il y a plus de 3 millions d'années. En effet, les 4 allèles majeurs *A1, B, O1* et *O1v* sont actuellement observés dans la majorité de la population mondiale. Il semble que l'haplotype *A* soit l'allèle ancestral (majoritaire chez le chimpanzé). La **Figure 2** décrit l'évolution des 5 allèles majeurs du système ABO de l'humain. Cet haplotype *A* aurait donné l'haplotype *B,* il y a 2.08 millions d'années par substitution de deux aa en position 266 et 268. Ce même haplotype *A* aurait donné l'haplotype *O*, et particulièrement l'haplotype *O1v*, par l'apparition d'une délétion d'une guanine en position 261 dans l'exon 6, responsable d'un décalage du cadre de lecture et de la fabrication d'une protéine tronquée inactive. L'haplotype *O1* serait la recombinaison des haplotypes *O1v* et *A*, par transfert de la délétion de guanine en 261. L'haplotype *A* actuel ou l'haplotype *A1* semble être issu d'une recombinaison des haplotypes *B* et *O1*. L' haplotype ancestral *A* s'est éteint, et le *A1* est apparu il y moins de 300 000 ans selon Kitano**(Figure 2)** [7].

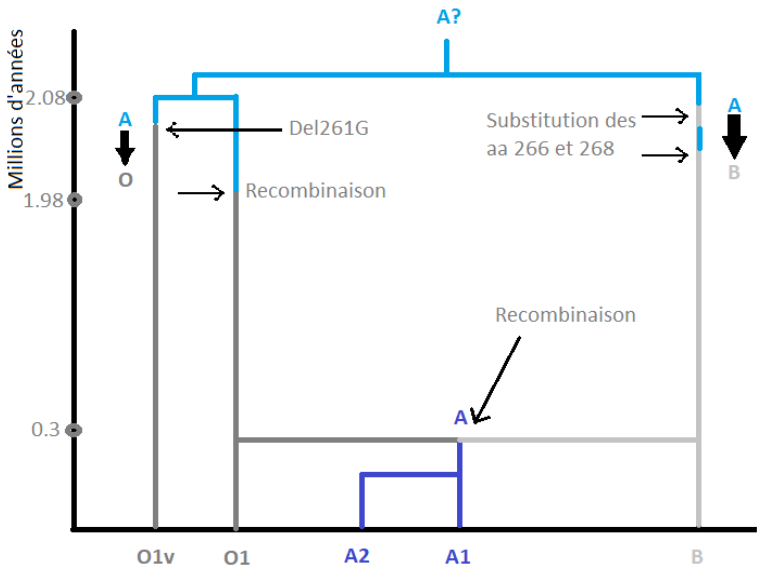


Figure 2 : Hypothèse d'évolution des allèles *ABO* d'après Kitano [7]

A ce jour, l'haplotype *A1* est surtout présent en Europe du Nord et en Europe centrale. Il est intéressant de remarquer que l'haplotype *A2* est moins présent dans la population mondiale ; il n'est présent qu'en Europe du Nord pour la majorité des cas, et de façon homogène en

Europe centrale et Europe de l'Est. L'allèle *B* est surtout retrouvé en Asie centrale et en Inde du Nord (ce qui serait lié à une résistance à la bactérie du choléra *Vibrio cholerae*), mais quasi absent du continent australien, Amérique du Nord et Amérique du Sud. L'allèle *O* est majoritaire dans le nouveau monde, particulièrement en Amérique du Sud, mais moins présent en Asie[7]. Actuellement, la fréquence de ces haplotypes en Europe est la suivante (par fréquence décroissante) : 40.81% de *O1*, 35.96 % de *A1*, 8.99% de *A2*, 8.99 % de *B*, 3 % de *AB* et 2.25% de *O2* **(Figure 3).**

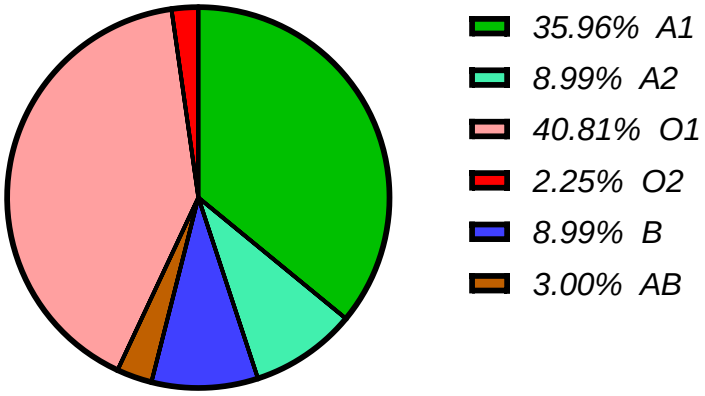


Figure 3: Fréquence des haplotypes *ABO* en Europe

4. *Génétique du système ABO*

Le groupe sanguin ABO est constitué de déterminants antigéniques A, B et H, et ces antigènes sont des molécules complexes de carbohydrates exprimées sur les GR principalement, et sur d'autres cellules et tissus du corps humain. Ces antigènes sont codés par 3 allèles : 2 allèles co-dominants *A* et *B* et un allèle récessif *O*. Les antigènes A, B et H sont synthétisés par les glycosyltransférases GT. La base moléculaire du gène *ABO* codant pour ces enzymes a été mise en évidence par Yamamoto *et al* en 1990[8].

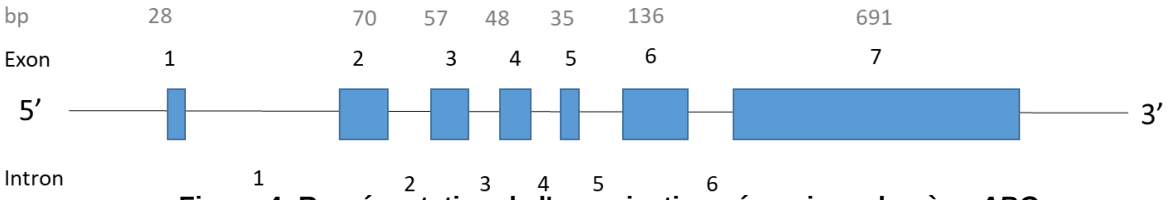


Figure 4: Représentation de l'organisation génomique du gène *ABO*

Le gène *ABO* est localisé sur la partie terminale du bras long du chromosome 9 (9q34.1-q34.2). Il est constitué de 18 kilobases (Kb), organisés en 7 exons (de 28 à 688 paires de bases (pb)) et 6 introns (554 à 12 982 pb) **(Figure 4).** Les deux derniers exons codent pour le domaine catalytique des GT. La plupart des variants de groupe sanguin résultent de SNV, codant une GT A ou B et produisent une glycoprotéine membranaire au niveau de la

membrane externe des GR. Les caractéristiques des principaux haplotypes sont représentées dans le **Tableau 2**[9]:

- L'haplotype *A1* est caractérisé par la substitution c.467C>T, p.Pro156Leu, exon 7.

- L'haplotype *A2* est identique à *A1*, excepté la délétion supplémentaire c.1061delC, p.Pro354Argfs*23 de l'exon 7. Cette délétion entraine la dispensation du codon stop, ce qui produit une GT rallongée de 21 aa à l'extrémité C-terminale.

- L'haplotype *B* se distingue de *A1* sur 7 positions N-terminales : c.297A>G → p.Thr99= ; c.526C>G→ p.Arg176Gly ; c.657C>T →p.His219= ; c.703G>A → p.Gly235Ser ; c.796C>A → p.Leu266Met ; c.803G>C → p.Gly268Ala ; c.930G>A →p.Leu310=

- L'haplotype *O1* est identique à *A1* excepté par la délétion de la guanine en 261 dans l'exon 6. Cette suppression décale le cadre de lecture, générant un codon stop prématuré. Cela traduit un peptide tronqué et inactif.

- L'haplotype *O2* n'a pas la délétion de la guanine en 216 mais possède c.802G>A →p.Gly268Arg, ce variant va abolir l'activité enzymatique des GT en modifiant le site de liaison au sucre N-ter.

On peut utiliser un dbSNP (database de référentiel central de polymorphisme nucléotidique unique) qui permet d'identifier de manière unique les variants de séquence. Il est défini par un numéro d'accès SNP de référence appelé « rs nombre ». Le numéro rs doit être utilisé et soumis lors de la première description d'un SNP pour faciliter son identification sans ambiguïté[10]. Ces 5 SNP définissent 5 principaux haplotypes communs dans les populations d'ascendance Européenne[11]. Ex : rs8176719 pour désigner l'haplotype *O1* (c261delG) **(Tableau 2).**

Phénotypes	Allèle	dbRBC	Exons	SNP	Variant	Numéro identification SNP	Schéma GT*	GT
O	ABO*O.01.01	O01 (O^{1})	6	c.261delG	pThr88Profs*31	rs8176719		GT O1
	ABO*O.01.02	O02 (O^{1v})	3	c.106G>T	p.Val36Phe			GT O1v
			4	c.188G>A	p.Arg63His			
				c.189C>T	p.Arg63=			
			5	c.220C>T	p.Pro74Ser			
			6	c.261delG	p.Thr88Profs*31			
				c.297A>G	p.Thr99=			
			7	c.646T>A	p.Phe216Ile			
				c.681G>A	p.Pro227=			
				c.771C>T	p.Pro257=			
				c.829G>A	p.Val277Met			
	ABO*O.02.01	O03 (O^{2})	2	c.53G>T	p.Arg18Leu	rs41302905		GT O2
			5	c.220C>T	p.Pro74Ser			
			6	c.297A>G	p.Thr99=			
			7	c.526C>G	p.Arg176Gly			
				c.802G>A	p.Gly268Arg			
A_1	ABO*A1.02	-	7	c.467C>T	p.Pro156Leu	rs579459		GT A1
A_2	ABO*A2.01	-	7	c.467C>T	p.Pro156Leu	rs1053878		GT A2
				c.1061delC	p.Pro354Argfs*23			
B	ABO*B.01	-	6	c.297A>G	p.Thr99=	rs8176743		GT B
			7	c.526C>G	p.Arg176Gly			
				c.657C>T	p.His219=			
				c.703G>A	p.Gly235Ser			
				c.796C>A	p.Leu266Met			
				c.803G>C	p.Gly268Ala			
				c.930G>A	p.Leu310=			

**Les mutations synonymes ne sont pas représentées*

Tableau 2 : Correspondance phénotype/génotype des principaux haplotypes du système ABO selon les recommandations de l'ISBT001

5. *Glycosylation du système ABO*

La glycosylation est une réaction enzymatique fortement impliquée dans la synthèse des groupes sanguins ABO. Cette réaction dépend des GT, qui sont des protéines transmembranaires de type II de 42 KDa constituées de 354 acides aminés. Les GT permettent l'ajout de glycanes (sucres) de différentes natures, qui sont soit secrétées soit intégrées à la membrane plasmique au niveau post-traductionnelle. Elle a lieu dans un premier temps dans le réticulum endoplasmique (RE), puis l'élongation de chaînes se termine dans l'appareil de Golgi.

Les fonctions de la glycosylation sont diverses : dégradation de protéines, clairance de protéines, signalisation cellulaire, trafic cellulaire, défense immunitaire (innée et acquise) et interaction hôte-pathogène. La durée de vie des GR est donc influencée par la réaction de glycosylation. Celle-ci résulte de la conjugaison de glycanes (sucres) avec un acide aminé, tel que l'asparagine (la N-Glycosylation) ou une sérine/thréonine (O-glycosylation), pour former les glycoprotéines :

- Pour la N-glycosylation, une asparagine est conjuguée à deux N-acétylglucosamines (GlcNAc) et trois résidus de mannose (Man) qui servent de noyau, ils forment une structure souvent ramifiée.
- Pour la O-glycosylation, une sérine ou une thréonine est liée à la N-acétylgalactosamine (GalNAc) et cette structure est souvent moins ramifiée que les N-glycanes, **(Figure 5).** Les O-glycanes se produisent dans des régions d'acides aminés en tandem à nombre variable[12].

Les génotypes *A* et *B* donnent 3 phénotypes de GT de niveaux différents de glycosylation.

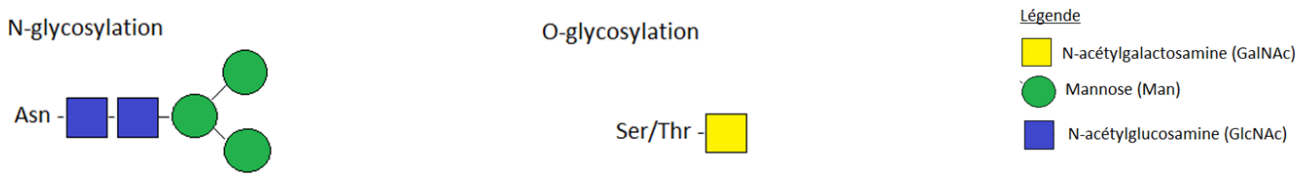


Figure 5 : Principe de la glycosylation [12]

6. *Expression des antigènes ABO*

- ***Sécréteurs/non sécréteurs***

Les allèles *A* et *B* codent pour différentes GT, qui permettent l'ajout de N-acétylgalactosamine et de D-galactose sur la substance H, pour former l'antigène A et B, alors que l'allèle *O* ne code pas pour une enzyme fonctionnelle. Ce sont les gènes *FUT1(H)* et *FUT2(SE)* qui codent pour une même fucosyltransférase : α-1,2-fucosyltransferase (α-1,2-FucT) pour former la structure H. Ils sont situés sur le chromosome *19* et sont indépendants du système ABO.

En 1952, le Docteur Bhende décrit un sujet Indien ayant un phénotype ABO particulier, caractérisé par l'absence d'antigène A, d'antigène B et aussi l'absence de substance H sur les GR et dans le plasma. On retrouve toutefois des anticorps anti-A, anti-B et anti-H très puissants. Ce phénotype particulier est appelé « groupe Bombay ». Cette découverte a permis de mettre en évidence des phénotypes H déficients « non sécréteurs » notés h/h se/se et des phénotypes H déficients « sécréteurs » notés h/h SE/SE[13].

En fonction du génotype, on a alors 4 phénotypes : HSE et Hse qui sont courants et hSE et hse qui sont plus rares. Les antigènes ABH sont présents dans les liquides biologiques de 80% des sujets qui possèdent le gène *FUT2*, ils sont dits « sécréteurs », et 20% des sujets qui sont déficients en gène *FUT2*, qui sont dit « non sécréteurs ». Les gènes *FUT1* ou *FUT2* codent pour la structure H avec un fucose attaché sur le carbone 2 d'un disaccharide précurseur. Cette étape est indispensable pour que les déterminants antigéniques A et/ou B puissent se greffer sur les GR[13].

- ***Antigènes ABO***

Les antigènes ABH sur les N-glycanes sont portés par 60 à 70% des glycanes à la surface du GR alors que 20 à 30% des antigènes sont portés par des complexes lipidiques polyglycosylés. Et une partie infime se trouve sur des petits glycolipides et O-glycanes[14]. Pour chaque antigène, on a une structure de base, l'antigène H qui est constitué d'un GalNAc et deux galactoses (Gal). **(Figure 6)**

- Pour constituer le phénotype O, un fucose est présent en α-2 du Gal pour former la structure H.
- Pour constituer le phénotype A, il y a ajout d'un GalNAc en α-3 sur la structure H.
- Pour constituer le phénotype B, un Gal est ajouté en α-3 sur la structure H.

Les combinaisons variables des 3 allèles génèrent 4 phénotypes majeurs : A, B, O et AB, qui sont caractérisés par la présence ou l'absence des antigènes A et B sur la surface du globule rouge, et par la présence naturelle des anticorps dans le sérum contre les antigènes absents sur ces cellules.

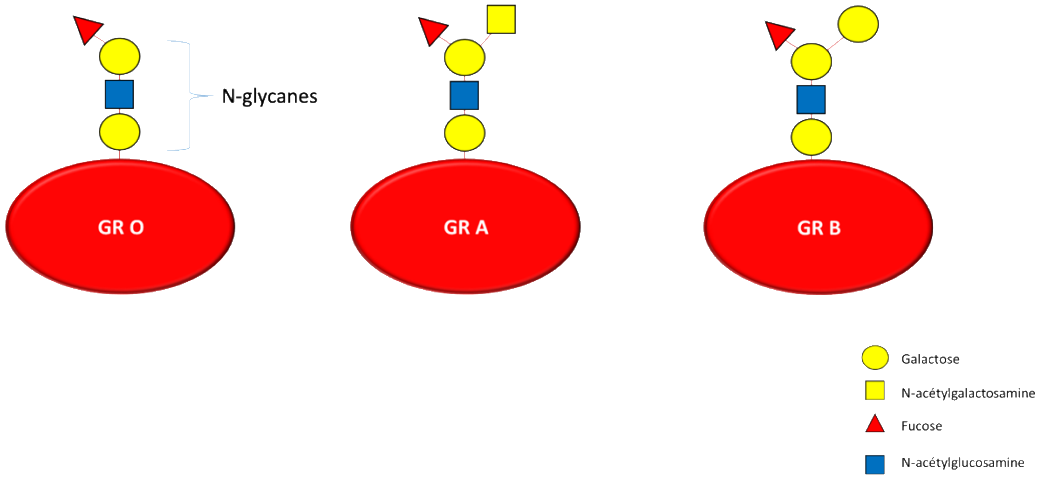


Figure 6 : Structures des glycanes sur les groupes sanguins ABO [12]

Ces antigènes ABH sont largement exprimés dans les tissus et sur les surfaces cellulaires comme les cellules épithéliales, les neurones sensoriels et l'endothélium vasculaire. La fucosyltransférase H ou α-1,2-FucT est, quant à elle, exprimée sur les GR, la moelle osseuse, les lymphocytes et les glomérules rénaux. On emploie alors le terme « groupe histo-sanguin ABO »[15]. Les groupes de glycanes (antigènes) permettent de déterminer le niveau de compatibilité transfusionnel entre un donneur et un receveur. Il existe des phénotypes ABO rares constitutionnels tels que les groupes A ou B faibles, les phénotypes cis-AB, les phénotypes B(A) et A(B) et des phénotypes rares acquis[13].

- ***Sous-groupes A : A1 et A2***

Il existe 2 sous-groupes pour le groupe A : A1 et A2. Le phénotype A1 possède un antigène A1 mis en évidence par la lectine (*Dolichos biflorus)*. Les hématies A2 ne possèdent pas l'antigène A1, mais on peut parfois mettre en évidence dans le plasma de sujet A2 ou A2B, des anticorps anti-A1 naturels et irréguliers. Ces anticorps sont des anticorps froids de faible titre n'ayant pas d'impact sur la transfusion sanguine. La différence entre ces deux phénotypes A1 et A2 est la constitution moléculaire de l'antigène et le nombre de sites antigéniques A à la surface cellulaire. D'après l'étude de Viitala *et al*.[14] la principale différence entre les GR A1 et A2, est la quantité de déterminants antigéniques présentés à la surface cellulaire. Parmi tous les peptides polyglycosylés à la surface du GR, les antigènes H sont plus nombreux sur le GR A2 que le GR A1 alors que les antigènes A sont plus nombreux sur les GR A1 que les GR A2 **(Figure 7).**

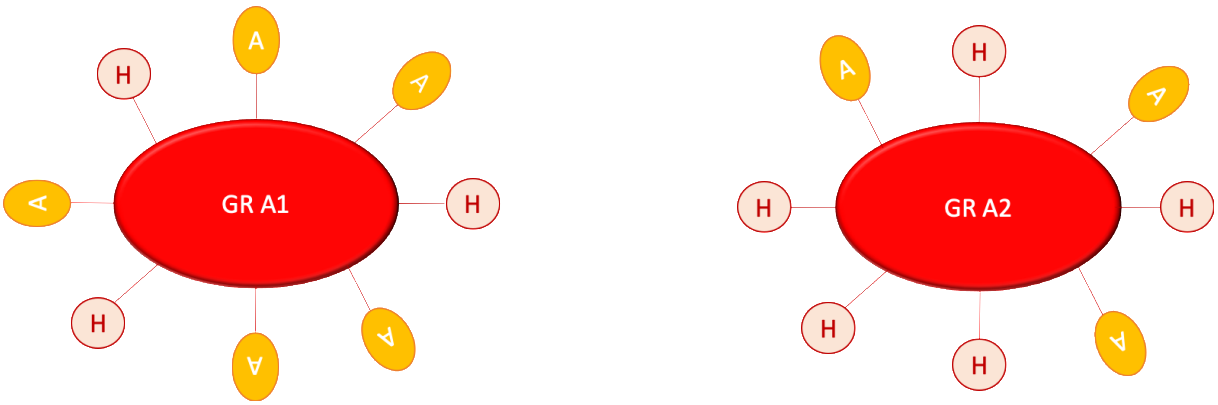


Figure 7 : Schéma simplifié de l'expression des déterminants antigéniques à la surface des globules rouges de phénotype A

De plus, le nombre de glycanes qui forment l'antigène A, varie en fonction du sous-groupe ; il y a plus N-acétylgalactosamine sur le GR A1 que sur le GR A2[14]. Cette différence de répartition est due à des activités de GT A différentes. Au niveau protéique, l'allèle *A2* présente une délétion d'un nucléotide en position 1059 par rapport à l'allèle *A1*, ceci conduisant à un décalage du cadre de lecture et par conséquent à l'ajout de 21 acides aminés supplémentaires. C'est l'ajout de ces 21 aa qui semble être la cause de la diminution l'activité de la GT A2.

- ***Sous-groupe O : O1 et O2***

La délétion de la guanine du nucléotide 261 induit un décalage du cadre de lecture. Par conséquent, deux codons STOP apparaissent (au niveau 353-355 et au niveau 386-388) provoquant la production d'une protéine inactive, plus courte que les GT A et B normales. La délétion de la guanine en 261 est caractéristique de l'haplotype *O1*.

Pour l'haplotype *O2*, la substitution de la glycine par une arginine au niveau du nucléotide 802 provoque un blocage de l'activité de la GT A et B. Il n'y a pas de suppression de la guanine en 261 dans allèle *O2* [16] **(Figure 8).**

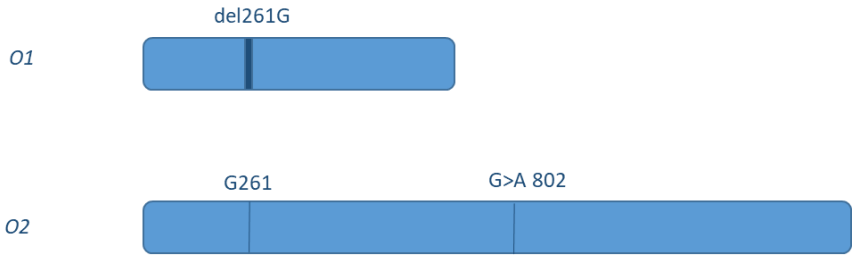


Figure 8 : Schéma explicatif des *loci O1* et *O2*

Génotypes	Glycosyltransférases	Sucres	Phénotypes	Anticorps Sérum
A1A1 ***A1A2*** ***A1O***	α-3-N-Acetyl-D-Galactosaminyl	Fucose + N-acétygalactosamine	A1	Anti-B
A2A2 ***A2O***	α-3-N-Acetyl-D-Galactosaminyl	Fucose + N-acétygalactosamine	A2	Anti-B*
BB ***BO***	α-3-D-Galactosyl	Fucose + Galactose	B	Anti-A
A1B ***A2B***	α-3-N-Acetyl-D-Galactosaminyl α-3-D-Galactosyl	Fucose + N-acétygalactosamine et Fucose + Galactose	A1B A2B	- -*
OO	-	Fucose	O	Anti-A + Anti-B

**Anti-A1 parfois présent dans les sérums des A2 et A2B*

Tableau 3 : Récapitulatif du système sanguin ABO

LE FACTEUR VON WILLEBRAND

1. Génétique du VWF

Le facteur von Willebrand (VWF) est une glycoprotéine plasmatique multimérique composée de 250kDa. Le gène du facteur *VWF* est situé sur l'extrémité du bras court du chromosome 12, il est composé de 180kb d'ADN. La région codante pour le VWF est composée de 52 exons dont la taille varie de 40 pb (exon 50) à 1,3 kb (exon 28) **(Figure 9).** L'analyse de la séquence VWF est compliquée par la présence d'un pseudogène (exons 23–34) situé sur le chromosome 22[17]. Les variants du *VWF* peuvent modifier le taux plasmatique du VWF en influençant sa synthèse, son stockage et sa sécrétion à partir des cellules endothéliales ou des mégacaryocytes/plaquettes, ou en régulant sa clairance[18].

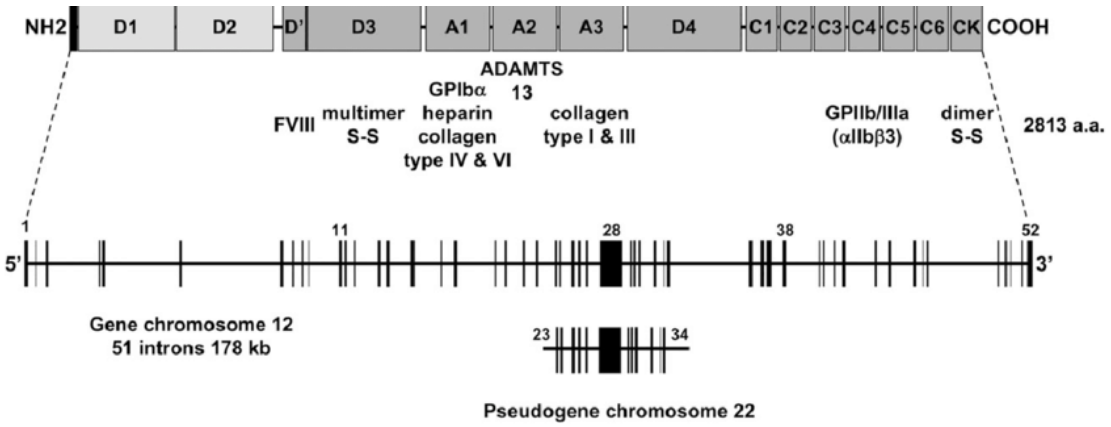


Figure 9 : Gène et protéine VWF [19]

2. Relation structure-fonction

- **Rôle pro-hémostatique**

- *Les complexes VWF-plaquettes*

En cas de brèche vasculaire, le VWF joue un rôle majeur dans le recrutement des plaquettes nécessaire pour la formation d'un thrombus. Il intervient dans un premier temps dans l'adhésion plaquettaire au sous-endothélium vasculaire et dans un second temps dans l'agrégation plaquettaire[20]. Dans la microcirculation, de par son interaction avec le collagène et les récepteurs plaquettaires, son rôle est particulièrement important. En présence de forces de cisaillement élevées, il change de conformation, passant d'une conformation globulaire à une conformation étendue. Ses sites de liaison à la GpIbα plaquettaire sont alors exposés et ces sites sont présents au niveau du domaine A1. Les plaquettes circulantes vont adhérer à la surface des multimères de VWF et par « roulement », adhérer au sous-endothélium de façon réversible. Pour qu'elles adhérent de façon irréversible, il faut que

l'intégrine α2bβ3 soit sous une conformation active et se lie au domaine C4 du VWF. L'agrégation a lieu, permettant de consolider le thrombus plaquettaire[21].

- *Stabilisation et transport du facteur VIII*

Le VWF plasmatique permet également le transport du facteur FVIII, jouant donc un rôle indirect dans la coagulation plasmatique (voie endogène)[22]. Le FVIII est lié au VWF de façon non covalente au niveau des domaines D' D3 (résidus 764-1035)[23,24]. Le FVIII lié au VWF, est inactif et sera activé par la thrombine en FVIIIa. Cette interaction permet également d'éviter la dégradation enzymatique prématurée du FVIII par la protéine C activée[25]. En l'absence de formation du complexe VWF-FVIII, la demi-vie plasmatique du FVIII est alors réduite à 1-2 heures au lieu de 12 heures en présence de VWF. Un déficit en FVIII peut alors être observé en cas de déficit quantitatif en VWF ou d'une mutation au niveau des domaines D'D3 affectant la liaison du VWF au FVIII (VWD type 2N).

- *Mégacaryocytopoïèse*

Le VWF joue un rôle dans les différents stades de la mégacaryocytopoïèse. En effet chez les 2B de type VWD, la mutation p.Thr1308Pro dans le domaine A1 du VWF va induire l'agrégation des plaquettes au VWF donnant une thrombocytopénie chronique. Mais à un stade plus précoce, le VWF est aussi retrouvé dans le mégacaryocyte avec la présence de marqueurs (PMCA et SERCA) qui signe une anomalie de maturation mégacaryocytaire[26]. L'étude de Poirault-Chassac *et al*, suggère que le VWF et les forces de cisaillement jouent un rôle dans la maturation des pro-plaquettes en plaquettes discoïdes dans la circulation plasmatique[27].

- ***Rôle pro-inflammatoire***

Le VWF joue un rôle dans la réaction inflammatoire. En effet, les complexes VWF-plaquettes formés à la surface de l'endothélium activé, participent au recrutement des leucocytes circulants au site de l'inflammation. Ces complexes VWF-plaquettes favorisent les étapes de « roulement », d'adhésion leucocytaire[28] et l'extravasation leucocytaire[29]. Le VWF va interagir avec les récepteurs des membranes leucocytaires (PSGL-1, β2 intégrine et SIGLEC-5) et les neutrophil extracellular traps (NETs). Les NETs sont des filaments d'ADN décondensés associés à des protéines granulaires de type histones qui sont libérés par des leucocytes activés à l'issue d'un programme de mort cellulaire spécifique. Ils ont un rôle antimicrobien mais également un effet pro-thrombotique et cytotoxique. L'interaction entre le VWF et les NETs est une interaction électrostatique entre le domaine A1 du VWF, chargé positivement et l'ADN des NETs chargé négativement, en présence des forces de cisaillement élevées.

- ***Rôle anti-angiogénique***

Le VWF endothélial a un rôle négatif dans la régularisation de l'angiogenèse[30]. En effet, l'inhibition de l'expression du VWF endothélial par siRNA induit une augmentation de la prolifération cellulaire et de l'angiogenèse contrôlées par le récepteur VEGF-R2 (Vascular endothélial growth factor receptor 2). On note également une augmentation du nombre de cellules endothéliales circulantes et de cytokines pro-angiogéniques chez les patients atteints de VWD[31].

- ***Rôle dans la prolifération cellulaire et apoptose***

Le VWF joue un rôle dans l'induction de mécanismes pro-apoptotiques. L'interaction entre VWF-GpIbα pourrait induire l'apoptose plaquettaire. L'interaction VWF-intégrine αvβ3 aurait un effet antiprolifératif sur certaines lignées tumorales en entrainant l'apoptose des cellules cancéreuses. Mais il pourrait exister un mécanisme d'échappement à cet effet anti-tumoral du VWF, par synthèse de l'ADAM28 capable de cliver les multimères de VWF[32].

3. Synthèse du VWF

La synthèse du VWF a lieu à 80% dans les cellules endothéliales et à 20% par les mégacaryocytes (précurseurs des plaquettes). Il est produit dans le RE et donne un précurseur monomérique appelé pré-propeptide composé de 2 813 acides aminés, qui donnera lui-même un propeptide (VWF:pp) et un facteur Willebrand. C'est en 1986 que la première séquence du Willebrand a été décrite, avec la présence de domaines répétés organisés dans cet–ordre : D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-B1-B2-B3-C1-C2-CK, les domaines D1-D2 représentant le pro-peptide et le reste des domaines correspondant à la partie mature du Willebrand[33].

Les progrès analytiques en bio-informatique, ont permis récemment de ré-analyser la structure de la protéine, et ainsi de proposer une nouvelle structure : D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-C1-C2-C3-C4-6-CK[34]. Cette analyse a permis de découvrir que les domaines D s'organisent en différentes structures, et on retrouve également 6 domaines C consécutifs au lieu des 2 précédemment décrits dans la région distale du VWF, entre le domaine D4 et l'extrémité C-terminale (**Figure 10**) [18,35] .

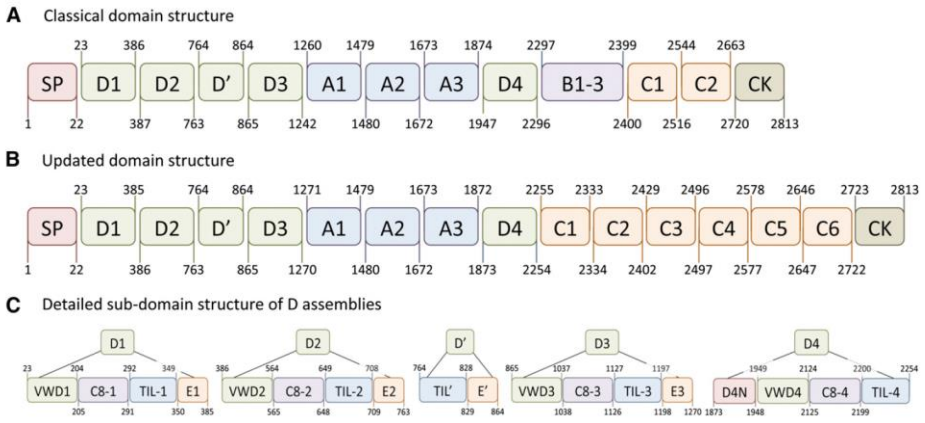


Figure 10: Structure primaire multi-domaines du pré-pro-VWF [(18)]

Cette structure donne un dimère de pro-VWF composé de deux pro-VWF reliés grâce à des ponts disulfures entre les domaines Cystein Knot (CK) sans le peptide signal. Le VWF est une protéine riche en cystéines avec un total de 232 résidus sur les 2 813 que comporte la sous-unité mature[(36)]. Leur distribution est hétérogène car ils sont majoritairement localisés aux extrémités N- et C-terminales du VWF. Ils sont tous impliqués dans la formation de liaisons disulfures intra- et inter-chaines. Ces résidus cystéines ont un rôle important dans la structure secondaire du VWF et certains d'entre eux sont nécessaires à la dimérisation (domaine CK) et la multimérisation (Domaine D3) du VWF. A l'inverse, les domaines A1, A2 et A3 ne comportent que deux résidus cystéines chacun. Ces résidus sont à l'origine de la structure en boucle des domaines A1 (entre les cystéines 1 272 et 1 458) et A3 (entre les cystéines 1 686 et 1 872) alors que le domaine A2 où les cystéines sont en position adjacente (1 669-1 670) en est dépourvu. Cette particularité structurale du domaine A2 lui confère une grande sensibilité à l'élongation en présence de forces de cisaillement élevées[(37)].

4. Glycosylation du VWF

Pendant sa synthèse, le VWF est sujet à des modifications post-transductionnelles suite à sa glycosylation et la séparation avec son propeptide. La glycosylation commence dès le RE ; une oligosaccharyltransférase va permettre la fixation de 14 unités de saccharides aux résidus d'asparagine dans la chaîne polypeptidique en développement. La sous-unité pro-VWF porte alors 17 N-glycanes, avec 4 N-glycanes situés dans le propeptide et 13 N-glycanes dans la sous-unité mature. Puis dans l'appareil de Golgi, lorsque les dimères de VWF sont assemblés en haut poids moléculaire (HPM), il y a maturation des N-glycanes (pouvant aller jusqu'à 40 sous-unités de multimères) **(Figure 11).**

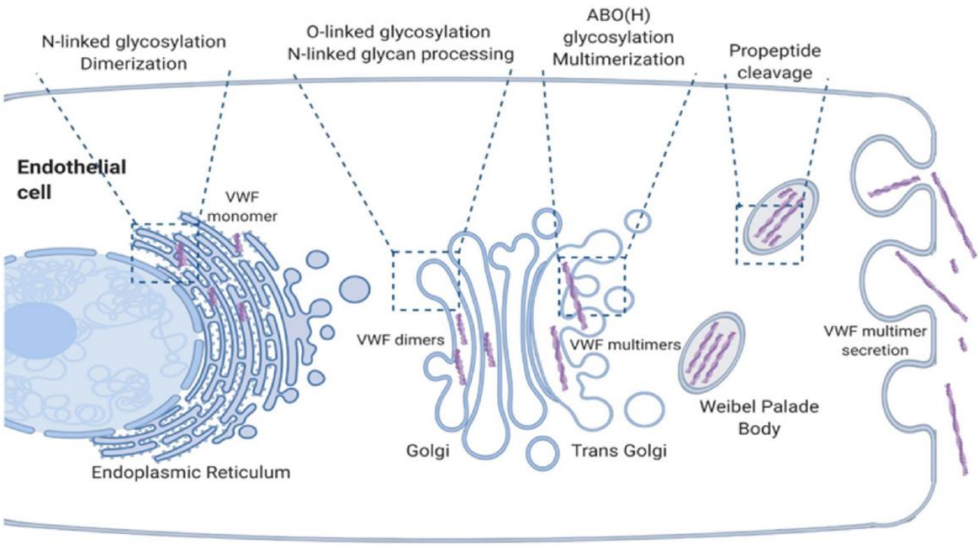


Figure 11: Étapes de synthèse et glycosylation du VWF [35]

Il y a alors ajout de 10 O-glycanes. Il existe une immense variation parmi ces structures glucidiques, en particulier parmi les N-glycanes[21]. Les N-glycanes sont de structure complexe, majoritairement des bi-caténnaires[39](**Figure 12).** Ces N-glycanes et O-glycanes portent des déterminants du groupe sanguin ABO et ils sont présents sur les glycanes de la sous-unité mature mais pas sur ceux du propeptide[17].

Plus récemment Canis *et al* [39,40] ont défini la structure en N- et O-glycanes grâce à la spectrométrie de masse (MS). Ces données ont révélé une hétérogénéité marquée des structures glucidiques au niveau du VWF. Ils ont identifié plus de 100 structures distinctes. Par exemple, les chaines tétra-antennaires complexes étaient les structures les plus courantes au niveau de N1515 et N1574 dans le domaine A2 du VWF. Inversement, les chaines simples bi-antennaires prédominaient au niveau des sites N-glycanes dans les domaines D3 (N1147) et D4 (N2223 et N2290). Contrairement aux N-glycanes qui sont distribués dans le monomère de VWF, huit des dix O-glycanes (T1248, T1255, T1256, S1263, T1468, T1477, S1486, T1487) sont regroupés en deux groupes de chaque côté du domaine A1. De plus, les O-glycanes existent sous forme de courte structure de type mucine.

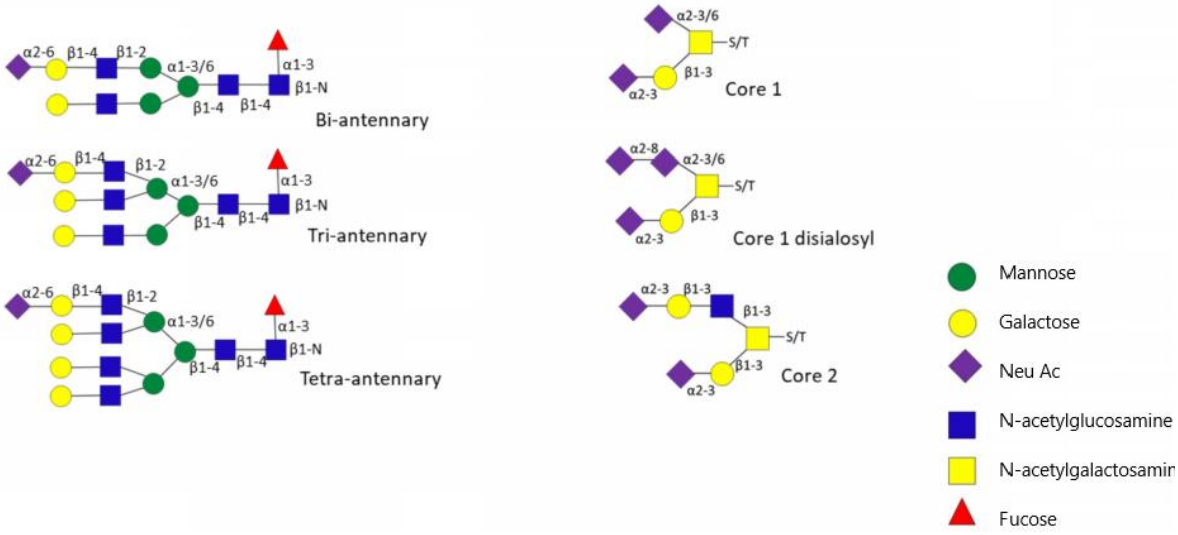


Figure 12: Complexes bi- tri- et tétra- antenne exprimés sur les N-glycanes et "Core" 1 et 2 et structure disialosylée sur les O-glycanes [35]

Néanmoins, une autre étude[41] a démontré l'hétérogénéité entre les O-glycanes. Dix-huit différents glycanes sont décrits et inclus dans des structures appelées « core » ou noyau 1 et 2. Les structures des noyaux sont généralement de plus petits glycanes dans lequel Galβ1-3GalNAc- sont liés aux résidus serine ou thréonine. En revanche, les structures du noyau 2 possèdent une ramification supplémentaire type N-acétylglucosamine attachée au niveau du noyau 1. Différents types de glucides sont exprimés préférentiellement au niveau du O-glycanes. En effet, les noyaux 2 sont plus courants sur les O-glycanes à l'extrémité C-terminale du domaine A1 (T1468, T1477, S1486, T1487)[41].

Il existe une glycosylation différente du VWF selon son origine, endothéliale ou plaquettaire. La base moléculaire de ces différences n'a pas été complétement élucidée. Le VWF d'origine plaquettaire n'a quasiment pas de N-glycanes et n'est pas sialylé comparé au VWF d'origine plasmatique. Le VWF d'origine plaquettaire présente seulement les antigènes H à sa surface similaire au VWF d'origine plasmatique. Le VWF d'origine plaquettaire contiendrait environ 50% d'acides sialiques en moins [42].

La sialylation joue un rôle dans la durée de vie des GR et des plaquettes ainsi que les infections. La majorité (>90%) des structures de glycanes sont captées par les acides sialiques[18]. L'équipe de Canis *et al*[39], a montré, grâce à la spectrophotométrie de masse que la fucosylation du noyau et le coiffage du galactose terminal, est une caractéristique prédominante avec l'ajout d'un acide α-2-6 sialique ou d'un résidu α-1,2-fucose. Les N-glycanes du VWF présentent un statut de sialylation élevé : 50% de l'ensemble des antennes de type complexe, recouvertes d'un résidu d'acide α-2,6-neuraminique et 15% des antennes de N-glycanes sont coiffées d'un résidu α-1-2 fucose.

Il existe une enzyme, la ST3 β-galactoside α-2,3-sialyltransferase 4 (ST3GAL4) qui facilite le transfert et la liaison des sucres terminaux de l'acide sialique aux N-glycanes et O-glycanes du VWF. La désialylation du VWF a été associée à une augmentation de la clairance du VWF par le récepteur de l'asialoglycoprotéine et entraîne une diminution de la demi-vie du VWF chez l'homme après l'administration de DDAVP[43,44]. Chez la souris, le VWF désialylé enzymatiquement a également une demi-vie significativement diminuée[43], et les souris déficientes en *ST3GAL4* ont des taux plasmatiques VWF:Ag faibles et un phénotype hémorragique[45]. Le séquençage de *ST3GAL4* chez des individus normaux a identifié six SNV groupés dans le premier intron qui sont associés au taux plasmatique de VWF, suggérant que les variants de *ST3GAL4* peuvent réguler le degré de sialylation du VWF[46].

5. Stockage et sécrétion du VWF

- ***Stockage du VWF***

Le VWF est stocké dans les corps de Weibel Palade (WPB) des cellules endothéliales avant d'être sécrété dans le plasma ou directement sécrété de façon constitutive. Dans les mégacaryocytes, le VWF est stocké dans les granules α-plaquettaires sous forme de multimères de très haut poids moléculaire (THPM). Mais la formation de ces lieux de stockage diffère en fonction de la dépendance du VWF ; les granules α peuvent se former en l'absence de VWF alors que la génération de WPB est strictement dépendante du VWF. Les WPB sont des structures tubulaires qui sont formées grâce au VWF. Cette structure est un assemblage de sous-unités de VWF, via des interactions intermoléculaires (pH acide), les domaines du propeptide et D'-D3 sont à l'intérieur des tubules et le reste de la structure du VWF dépasse de l'architecture hélicoïdale. Cet auto-assemblage entraine la formation de longs tubules hélicoïdaux[18]. Sans VWF, il n'y a donc pas de WPB.

- ***Sécrétion du VWF***

Les granules α libèrent le VWF principalement lors de l'activation plaquettaire, et le relargage de VWF par les cellules endothéliales est régulé en fonction du taux basal de VWF. Les WPB vont fusionner avec la membrane plasmatique et libérer leur contenu dans l'espace extracellulaire (sang ou sous endothélium).

Il existe 3 voies de sécrétion : la sécrétion constitutive correspondant à la libération de VWF de faible MW dans l'espace sous-endothélial. Bien que cette forme de VWF puisse lier les plaquettes, elle est constituée de multimères courts et ne forme pas de longues chaînes. Cette voie est minoritaire. La libération basale correspond à la sécrétion de VWF de plus haut MW à un taux faible mais continu et représente ~80 % du VWF circulant. La voie régulée est quant à elle dépendante d'agonistes et conduit à la libération de VWF de haut MW du côté apical (lumen) [18].

Un nouveau type de régulation de la sécrétion du VWF a été identifié ; les VWF sont souvent à proximité d'autophagosomes (structure qui capture des protéines ou des composés cellulaires dans une double membrane lipidique et qui dégrade ces composés après fusion avec un lysosome) et la présence de VWF est retrouvée à l'intérieur de ces structures. L'inhibition de l'autophagie *in vitro* ou *in vivo* de ces autophagosomes a conduit à une diminution de la libération de VWF[47].

6. Clairance du VWF

Après sa libération dans la circulation, le VWF est prêt à fonctionner comme vecteur moléculaire et comme recruteur de plaquettes lors d'une lésion vasculaire. Néanmoins, sa durée de vie est limitée comme les autres protéines. Les protéines plasmatiques sont sensibles aux changements physiques comme l'oxydation, la protéolyse et la glycation, qui peuvent altérer leurs propriétés fonctionnelles et il existe des mécanismes de régulation qui permettent d'éliminer les protéines vieillissantes[18]. Dans le plasma, le VWF circule sous forme globulaire. Sa demi-vie plasmatique dépend de sa taille, de son interaction avec les cellules et les plaquettes, de sa sensibilité à l'ADAMTS13 et de sa clairance. On peut surveiller sa clairance grâce au rapport VWFpp/VWF:Ag[18].

Plusieurs études ont décrit plusieurs différences fonctionnelles importantes entre le VWF plaquettaire et VWF plasmatique *in vitro*. En effet, le VWF plaquettaire est enrichi en multimères de HPM, il se lie à la GpIBα plaquettaire avec une affinité plus faible que le VWF plasmatique. En revanche, il a une meilleure accroche à la GpIIbIIIα qui est susceptible d'être liée à la variation post-traductionnelle du VWF en fonction du lieu de fabrication. Ces mécanismes responsables de ces différences n'ont pas été définis et le profil glycane du VWF plaquettaire n'a pas été élucidé à la différence du profil glycane du VWF plasmatique.

En plus de ces différences, les antigènes des groupes sanguins A et B sont fortement exprimés sur le VWF-plasmatique, mais non retrouvés sur le VWF plaquettaire ; par contre, il existe sur une forte expression de l'antigène H sur le VWF plaquettaire comme sur le VWF plasmatique[42]. Le VWF plasmatique est fortement sialylé contrairement au VWF plaquettaire. En raison de ce profil glycane différent, le VWF plaquettaire présente une résistance plus ou moins élevée à la protéolyse à l'ADAMTS13[42]. La sialylation influe sur l'acide sialique lié aux N ou O-glycosylation et joue un rôle critique dans la modulation de la fonction, de la protéolyse et la clairance du VWF.

D'autres récepteurs semblent impliqués dans la clairance du VWF sialylé comme le récepteur CLEC4M (domaine de la lectine de type C, famille 4 membre M) [48] et STAB2 (stabiline-2)[49] sur les cellules endothéliales du foie (LSECs), LRP-1 (Low density lipoprotein receptor-related protein 1) [50,51], SIGLEC-5 (Sialic acid-binding Ig-like lectin 5)[52], MGL (Macrophage-galactose-type-lectine)[53] sur les macrophages et ASFPR (asialoglycoprotein receptor 1)[43] sur les hépatocytes.

FACTEURS INFLUENÇANT LE TAUX PLASMATIQUE DE VWF

- ***Généralités***

Le taux normal de VWF:Ag varie d'environ de 50 à 200UI/dL chez la population normale. Un taux bas (<50UI/dL) constitue un risque hémorragique le plus souvent héréditaire, comme la maladie de Willebrand (VWD). A l'inverse, un taux élevé (>150 UI/dL), augmente le risque thrombotique veineux **(Figure 13)**[54].

Figure 13: Risque en fonction du taux de VWF:Ag

Le VWF circule dans le plasma à des taux significativement différents selon les individus. Cela dépend de plusieurs facteurs tels que l'ethnie[55], les hormones (pilules œstro-progestatifs et vasopressine), l'environnement[56–58] , les pathologies constitutionnelles (VWD) et acquises (LVAD, ECMO).

Un ensemble de *loci* quantitatifs *non-VWF* (QTL = Quantitative Trait *Loci*) et le gène *VWF* peut engendrer une modulation du VWF **(Figure 14**). En fonction de la présence de variants, ils contribuent soit au phénotype de la maladie de von Willebrand (VWD) de type 1, soit à un état hypercoagulabilité. L'identification de *loci* supplémentaires a été au centre d'études pilotée par des gènes candidats, pour lesquelles la connaissance du *VWF* est utilisée pour identifier les gènes qui modifient les taux de VWF:Ag, et des études de cartographie des traits d'observation telles que les études d'association à l'échelle du génome (GWAS : genome-wide association studies ou aussi appelée étude d'association pangénomique). Les études d'association fondées sur les caractères ont jusqu'à présent fourni un premier aperçu de l'architecture de la régulation génétique des concentrations plasmatiques de VWF, et ont documenté un certain nombre de QTL, estimé leur effet, et ont étudié leur potentiel de médiation des effets épistatiques (interaction entre les gènes) et pléiotropiques (gène qui détermine plusieurs caractères) sur les concentrations plasmatiques de VWF. Ils peuvent aussi appuyer ou remettre en question des études fondées sur des hypothèses antérieures.

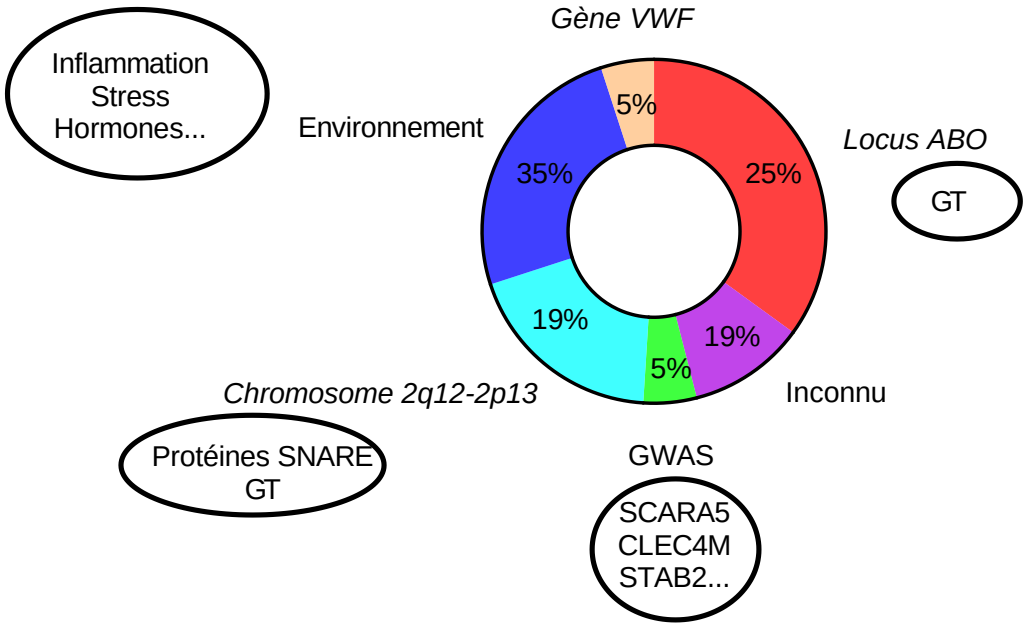


Figure 14: Facteurs influençant le taux plasmatique de VWF [125]

- ***Environnement***

L'environnement est un des facteurs influençant le taux plasmatique de VWF et représente un impact non négligeable d'environ 35%, dans l'interprétation de ce taux. En effet, le VWF est une protéine produite en quantité importante en phase aiguë de pathologies inflammatoires car les médiateurs pro-inflammatoires peuvent stimuler la libération de VWF à partir des réserves endothéliales et/ou plaquettaires[59–61]. Le taux de VWF:Ag peut également être influencé par des événements physiologiques, y compris le cycle menstruel[62], la grossesse (multiplié par deux à trois au troisième trimestre)[63], l'exercice[64], le vieillissement (augmentation de 10% par décennie) et les fluctuations du rythme circadien[65], ou les expositions environnementales, y compris la fumée de cigarettes[66] et la pollution de l'air[67].

- ***Ethnie***

D'autres études basées sur la population comme celle de Miller *et al*[55], ont montré que l'ethnie a une influence sur le niveau de VWF plasmatique. En effet, des femmes afro-américaines ont un taux de VWF plasmatique significativement plus élevé que les femmes caucasiennes. Des études récentes ont mis en évidence la forte incidence des variations de séquence du *VWF* spécifique à l'ethnie, les Africains ont des variants plus importants dans le *VWF* que les non-Africains[68–70]. Le nombre de variants le plus haut a été trouvé dans les domaines D' et D2[68], ce qui peut, en partie, contribuer à des niveaux élevés de VWF:Ag dans ces populations.

- ***Gène VWF***

Les introns et les exons du *VWF* sont connus pour être riches en variants de séquence. Une analyse de la base de données de 1 000 génomes a identifié environ 2,5% de variants mononucléotidiques (SNV) de VWF par individu et 8,5% des individus possédant un variant de région codante non synonyme[68]. La majorité des variants (>75%) est fonctionnelle, bien que certains SNV dans les régions codantes et promotrices chez les individus normaux, modifient l'activité du VWF et les taux du VWF :Ag[68,71]. Récemment, il a été démontré qu'un SNV commun est exprimé sur le *CD9* des plaquettes et le gène *VWF*, situé dans une région super-amplificatrice[72]. On retrouve dans le gène *VWF,* des SNP (y compris dans la région du promoteur) qui sont associés à un taux élevé de VWF: Ag et peut engendrer un risque de thrombose veineuse ou de développer une maladie coronarienne[73,74](examiné en détail par Van Schie *et al.*[75]). Par exemple, le variant commun du *VWF* c.2365A>G (p.Thr789Ala), avec le variant c.2385T> C (p.Tyr795=), est associé à la fois à une augmentation du taux de VWF et au risque de thromboses veineuses (TV)(OR 1,2)[76,77]. Ces variants influencent la synthèse et/ou sécrétion du VWF dans un système d'expression hétérogène et démontrent également des preuves d'une demi-vie élevée du VWF[78,79].

- ***Étude GWAS***

Dans un premier temps, l'analyse génétique sur la thrombophilie idiopathique[80], réalisée dans 21 familles espagnoles (342 individus), a permis d'identifier six QTL associés aux concentrations plasmatiques de VWF, comprenant le *locus ABO* au chromosome *9q34*, ainsi que des régions sur les chromosomes *1p36.13, 2q23.2, 5q31.1, 6p22.3 et 22q11.1*. Le taux de VWF :Ag est associé à environ plus de 400 SNV jusqu'à huit *loci* (*VWF, ABO, STAB2* (stabiline-2), *SCARA5* (récepteur piégeur de classe A, membre 5), *TC2N* (domaines C2 en tandem, nucléaire), *STXBP5* (protéine 5 de liaison à la syntaxine), *STX2* (syntaxine-2) et *CLEC4M* (domaine de la lectine de type C, famille 4 membre M)). L'ensemble de ces *loci* expliquait environ 13% de la variation des taux plasmatiques de VWF. La majorité de ces variants est localisée dans les introns et ils peuvent exercer leur influence à travers un certain nombre de mécanismes potentiels. Par exemple, la modification de l'efficacité d'épissage de l'ARNm, ou la modification des niveaux d'expression génique peuvent moduler les variants de région codante qui vont coder pour une protéine différente. Des variants non-synonymes peuvent également influencer la traduction des protéines par des effets d'épissage, par un biais d'utilisation des codons ou en modifiant la stabilité de l'ARNm.

L'association entre le VWF et des nouveaux *loci* est identifiée dans l'étude CHARGE[76], qui a été effectuée dans plusieurs analyses GWAS supplémentaires. Une étude GWAS est une étude pangénomique qui permet l'analyse de nombreuses variations de séquence chez de nombreux individus afin d'étudier leur corrélation avec des traits phénotypiques. La méta-analyse de GWAS, mise à jour dans le consortium CHARGE, comprenait les résultats d'une cohorte de plus de 46 000 individus normaux d'origines européenne, africaine, asiatique et hispanique[81]. Les QTL identifiés et associés au taux plasmatique de VWF sont : *ARSA, C2CD4B, DAB2IP, FCHO2, GIMAP7, HLA-DGA1, OR13C5, PDHB, RAB5C, ST3GAL4 et TAB1 / SYNGR1*. La fonction putative de la majorité de ces nouveaux *loci,* semble être impliquée dans la régulation et de la sécrétion de VWF par les cellules endothéliales et/ou les mégacaryocytes. Cependant, ces associations demandent une validation supplémentaire. Les études génétiques observationnelles sont basées sur des hypothèses, et permettent d'identifier des variants communs qui ont des influences plus ou moins importantes sur le taux plasmatique de VWF, et des variants plus rares qui ont une grande influence sur ce taux **(Figure 15).**

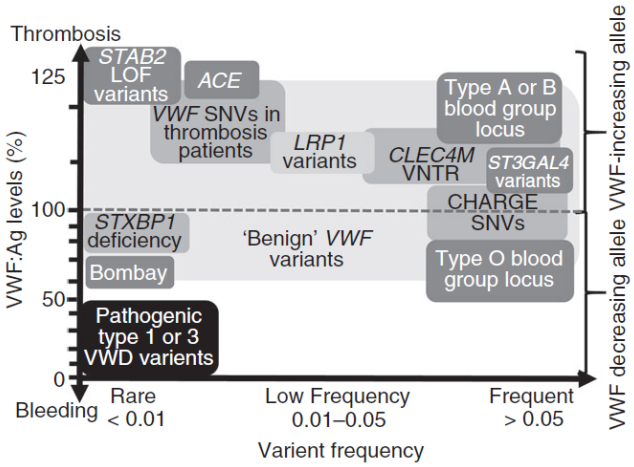


Figure 15 : Variants génétiques rares et communs influençant le taux de VWF:Ag [62]

Des études expérimentales complémentaires sont nécessaires pour identifier comment ces variants par cette étude exercent leurs effets, afin de comprendre les mécanismes qui modifient les taux plasmatiques de VWF.

La majorité des QTL non-*VWF* retrouvés appartient à trois grandes catégories : les gènes qui modifient la glycosylation du VWF, la sécrétion du VWF par les cellules endothéliales ou les plaquettes et la clairance plasmatique du VWF **(Tableau 4).**

Gènes	Mécanisme supposé	Location cellulaire
CLEC4M	Clairance	Cellules endothéliales du foie
LRP1	Clairance	Macrophage
SCARA5	Clairance	Macrophage/ Fibroblaste
ST3GAL4	Clairance	Enzyme
STAB2	Sécrétion/Clairance	Cellules endothéliales du foie
FUT1/FUT2	Glycosylation	GR, liquides biologiques…
STXBP5	Sécrétion	Complexe SNARE
STX2; ARSA; C2CD4B; DAB2IP; FCHO2; GIMAP7; HLA-DGA1; OR13C5; PDHB; RAB5C	Sécrétion ?	Cellules endothéliales/mégacaryocytes

Tableau 4 : Récapitulatif des gènes qui modulent les taux de VWF

RELATION ENTRE LE SYSTEME ABO ET LE FACTEUR VON WILLEBRAND

1. Groupe ABO et glycosylation du VWF

- ***Généralités***

Sur le VWF, les structures du groupe sanguin sont exprimées sous forme de résidus terminaux au niveau des N- et O-glycanes. On les retrouve sur le FVIII et l'α-2-macroglobuline mais peu d'autres glycoprotéines portent ces structures ABO. On estime qu'environ 13% des N-glycanes et 1% des O-glycanes abritent les déterminants du groupe sanguin. Mais les analyses de spectrométrie de masse, ont montré que l'expression des glycoprotéines ABO se trouve sur quasiment tous les domaines du VWF. On les retrouve sur tous les sites des N-glycanes sauf sur le N1147. Et les niveaux d'expression de glycosylation sont plus élevés sur les sites tels que N1515, N1574 et N2635. En revanche, N857, N2290 et N1147 représentent les sites les moins glycosylés (1-3% de structures ABO) [39,40] **(Figure 16)**.

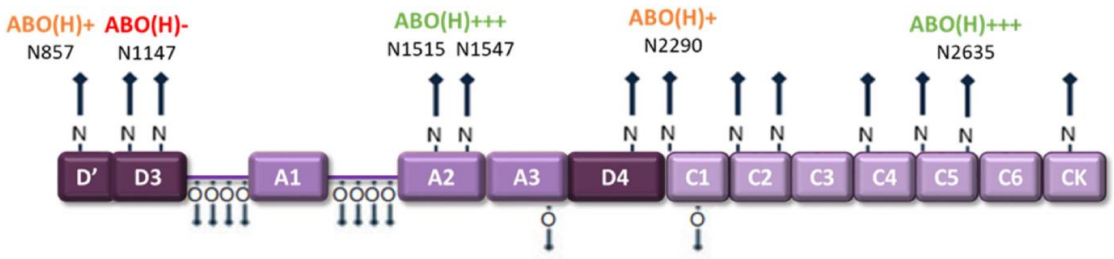


Figure 16: Glycosylation du VWF [41]

L'expression des antigènes ABH sur la structure du VWF plasmatique est régulée par un certain nombre de facteurs. Le génotype *ABO* influence la charge d'antigène A et B sur le VWF. On a remarqué que le niveau d'expression de glycanes est significativement réduit chez les hétérozygotes (*AO* ou *AB)* par rapport aux homozygotes *AA* ou *BB*. De plus, il existe une hétérogénéité significative dans la quantité d'antigène ABH sur le VWF synthétisé par les celllules endothéliales.

- ***Acteurs influençant le niveau de glycosylation***

La glycosylation du VWF est influencée par l'enzyme ST3GAL4, par le mécanisme de sialylation mais aussi par les gènes *FUT1/FUT2* qui codent pour les antigènes H et par le système sanguin ABO qui est responsable en grande partie de la glycosylation du VWF.

- *FUT1/FUT2 :*

Les gènes *FUT1/FUT2* permettent la formation de la structure H sur les GR ou encore sur le VWF. La présence de cette structure est essentielle pour la glycosylation de ces protéines. *FUT1* et *FUT2* codent pour une fucosyltransférase et ajoute un fucose à la structure du N-glycane **(Figure 17):**

- *FUT1* code pour l'enzyme α-2-fucosyltransférase, pour former l'antigène H qui régule la formation de l'antigène H sur le VWF.
- *FUT2* code pour la même enzyme et forme l'antigène Se et régule la formation de l'antigène H sur les GR et la sécrétion dans la muqueuse et le tube digestif.

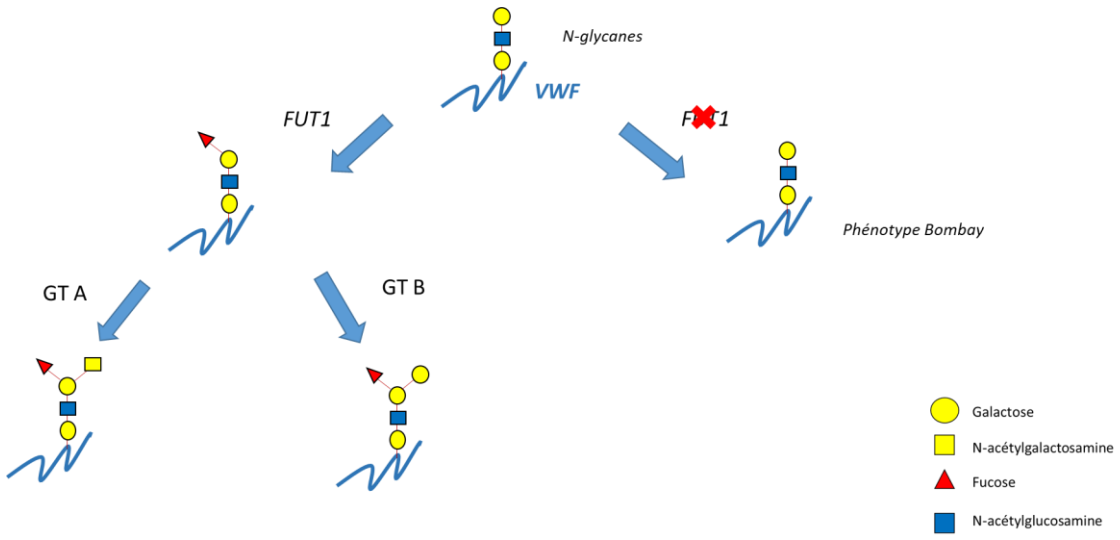


Figure 17: Structure des antigènes ABH sur les glycanes du VWF [61]

La structure de l'antigène H de base est ensuite modifiée par des GT supplémentaires pour créer des N-glycanes complexes. Les personnes ayant soit le phénotype Bombay (déficient en *FUT1/2*), soit le phénotype « para-Bombay » (déficient en *FUT1*) n'ont pas d'antigène H sur le VWF. Ils ont donc des taux plasmatiques de VWF:Ag plus bas que les groupes sanguin A, B ou O, suggérant que l'activité *FUT1* est un régulateur important des taux plasmatiques de VWF[82].

FUT2 est également associé au taux plasmatique de VWF; l'hypothèse émise est que *FUT2* est impliqué dans la sécrétion ou la clairance du VWF mais le mécanisme reste inconnu à ce jour[83].

- *Locus du groupe sanguin ABO*

Le système ABO a été identifié pour la première fois comme un modulateur des taux de VWF dans les années 1980[84], et a été identifié à plusieurs reprises comme le *locus* ayant la plus forte influence sur le taux plasmatique de VWF dans les études de variants[73,76]. Environ 25% à 30% de la variabilité du taux plasmatique de VWF peut être expliquée par le système ABO, le groupe sanguin O étant associé à un taux de VWF :Ag plus bas que les individus de groupe non-O. Les individus hétérozygotes *AO* ou *BO* codant pour les GT A ou B, ont un taux intermédiaire de VWF plasmatique respectivement alors que les individus hétérozygotes *AB* et homozygotes *AA* ont un taux élevé de VWF plasmatique **(Figure 18).**

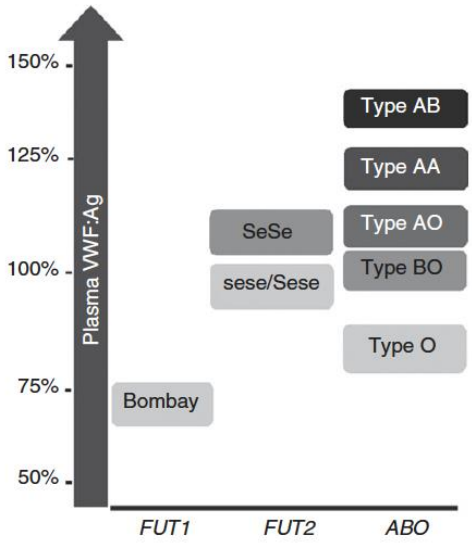


Figure 18: Influence du gène *ABO* et *FUT1/FUT2* sur les taux plasmatiques de VWF:Ag [62]

L'équipe de Sousa *et al*[85], fait l'hypothèse que l'expression de l'antigène H à la surface du VWF module le taux plasmatique de VWF:Ag et FVIII. Ils ont montré que les VWF:Ag varient en fonction des sous-groupes ABO et qu'il existe une forte corrélation entre les taux de VWF:Ag et FVIII, et entre VWF:Ag et VWF:Rco. Un lien a été démontré entre le *locus ABO* et VWF:Ag avec une *p*-value significative. Il est intéressant de noter que les sujets génotypés A^3O, A^xO et $B^{el}O$ ont des taux significativement plus bas en VWF:Ag et FVIII comparé au groupe A^2B. Ils concluent qu'il n'y a pas de différence entre les sous-groupes *OO* et A^2O. **(Figure 19)**.

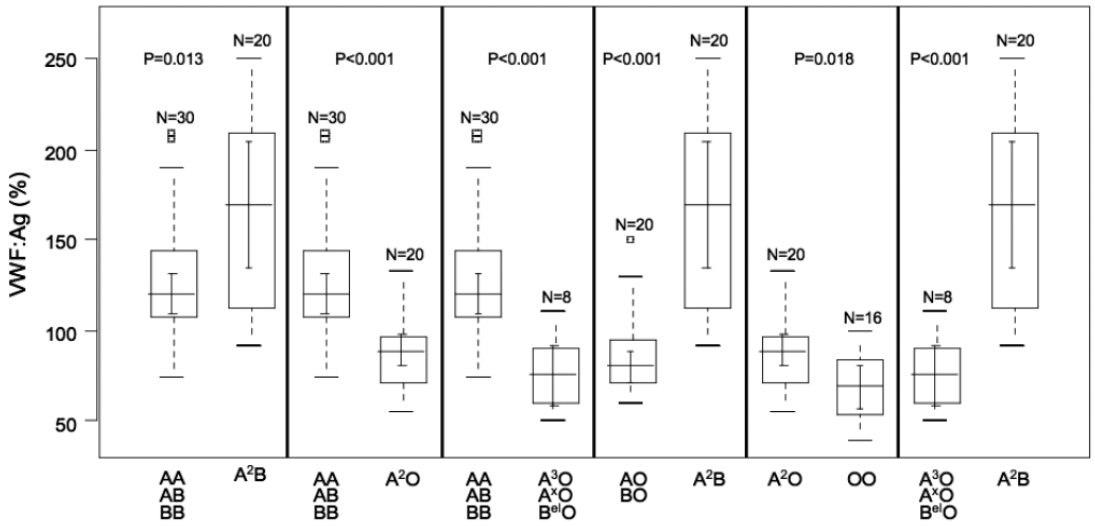


Figure 19: Box-plots VWF:Ag médian en fonction des diplotypes du système ABO [85]

De plus, le taux des déterminants antigéniques A et B est significativement plus élevé sur le VWF secrété immédiatement après DDAVP. Mais par contre, on ne retrouve pas les déterminants antigéniques A et B sur le VWF stocké dans les plaquettes. Cela serait dû à une différence d'assemblage des antigènes ABH sur le VWF d'origine endothéliale et le VWF d'origine plaquettaire, au niveau du RE.

Et plus précisement, l'article de O'Donnell *et al*[86], montre des résultats cohérents avec les études précédentes. Premièrement, il décrit que la quantité d'antigène H exprimée sur le VWF peut varier de façon significative entre les groupes sanguins. Il semble que la plupart des structures H soit convertie en antigène A chez les individus de génotype *A1A1 et A1O1*. L'origine de la variation des antigènes H à la surface du VWF est fonction des GT exprimées par le système ABO. Deuxièmement, il montre que les niveaux d'expression de GT A peuvent varier de manière significative au sein même du groupe A. Les éléments régulateurs contrôlant l'expression de GT A n'ont pas été entièrement caractérisés. Mais les variations observées de l'activité de la GT A pourraient être en lien avec une modulation de la sécrétion ou de la clairance de cette GT. Pour finir, le taux de VWF:Ag est significativement

plus élevé chez les individus de diplotype *A1A1* (moyenne de 111,8 UI/dL) que chez les individus de diplotype *A1O1* (moyenne de 96,1 UI/dL, *p*=0,03) et plus élevé chez les individus de diplotype *A1O1* que chez les individus de diplotype *A2O1 ou O1O1* (moyennes de 84,1 et 77,4 UI/dL, respectivement ; *p*=0,03 et *p*=0,033). Il est intéressant de remarquer qu'il n'y a pas de différence significative des taux de VWF:Ag entre les individus de diplotype *A2O1 et O1O1* **(Figure 20)**.

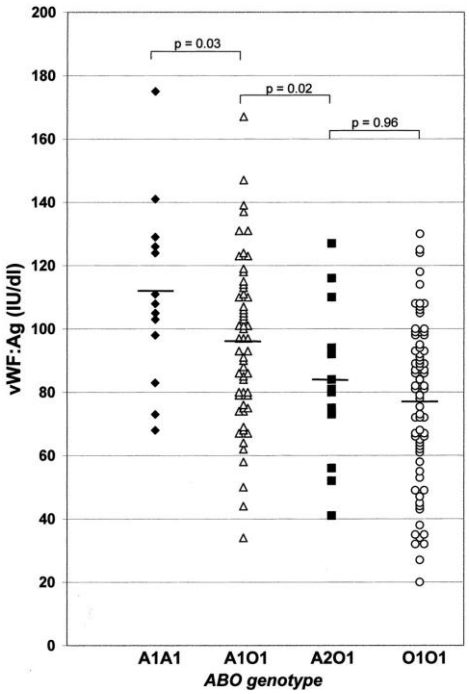


Figure 20: VWF:Ag en fonction des génotypes *A* et *O* [(86)]

2. Groupe ABO et sialylation du VWF

Le degré de sialylation du VWF est variable. Le VWF provenant des cellules endothéliales est entièrement sialylé, tandis que le VWF plaquettaire présente une sialylation liée au N-glycanes significativement réduite, probablement en raison de l'activité de sialyltransférase différente entre le VWF provenant des cellules endothéliales et VWF d'origine plaquettaire. De plus, les études ont également montré de façon constante que les déterminants antigéniques A et B ne sont pas présents sur le VWF dérivé des plaquettes. Ces différences de glycosylation reflètent probablement des différences dans la modification post-traductionnelle du VWF dérivé des plaquettes (synthétisé dans les mégacaryocytes) et du VWF dérivé du plasma **(Figure 21)**[(87)].

Une fois sécrété, le VWF est exposé aux glycosidases plasmatiques circulantes, qui éliminent ou rajoutent des résidus d'acide sialique sur les parties terminales des différentes glycoprotéines circulantes. La sialylation n'est donc pas un processus spécifique du VWF. Cependant, 35% des N-glycanes du VWF portent à la fois un acide sialique et un antigène ABH mais sur des antennes distinctes[(39)].

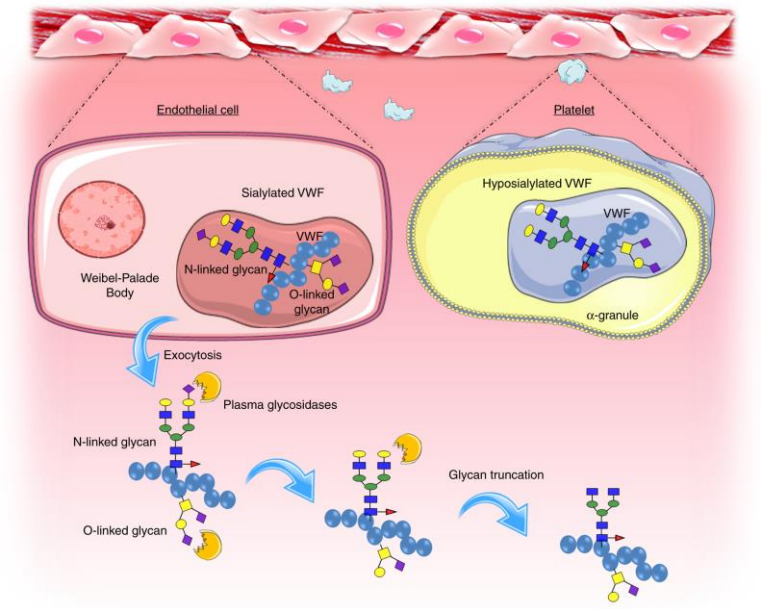


Figure 21 : Différence de sialylation en fonction de l'origine du VWF [87]

3. Groupe ABO et fonctionnalité du VWF

Pendant de nombreuses années, l'activité du cofacteur VWF à la ristocétine (VWF:RCo) a été le test de référence pour évaluer l'activité du VWF[88]. Dans ce test, la ristocétine se lie au domaine A1 du VWF et permet au VWF d'interagir avec le récepteur GpIb des plaquettes et déclenchent ainsi une agglutination plaquettaire. Le test VWF:RCo présente un coefficient de variation inter et intra-laboratoire important[89]. Des études antérieures démontrent que les modifications de structures des glycanes influencent considérablement son activité biologique[90]. En particulier, des rôles spécifiques pour les déterminants antigéniques ABH dans la régulation de l'interaction des plaquettes aux VWF. L'équipe de Sarode *et al*[91] a purifié le VWF:Ag à partir de plasma congelé. Grâce à des enzymes comme l'Azyme (α-acétylgalactosaminidase), les antigènes A du VWF sont éliminés et associés à une réduction significative de 30% de l'activité VWF. Le traitement des déterminants B par Bzyme (α-galactosidase) a eu un effet similaire **(Figure 22).**

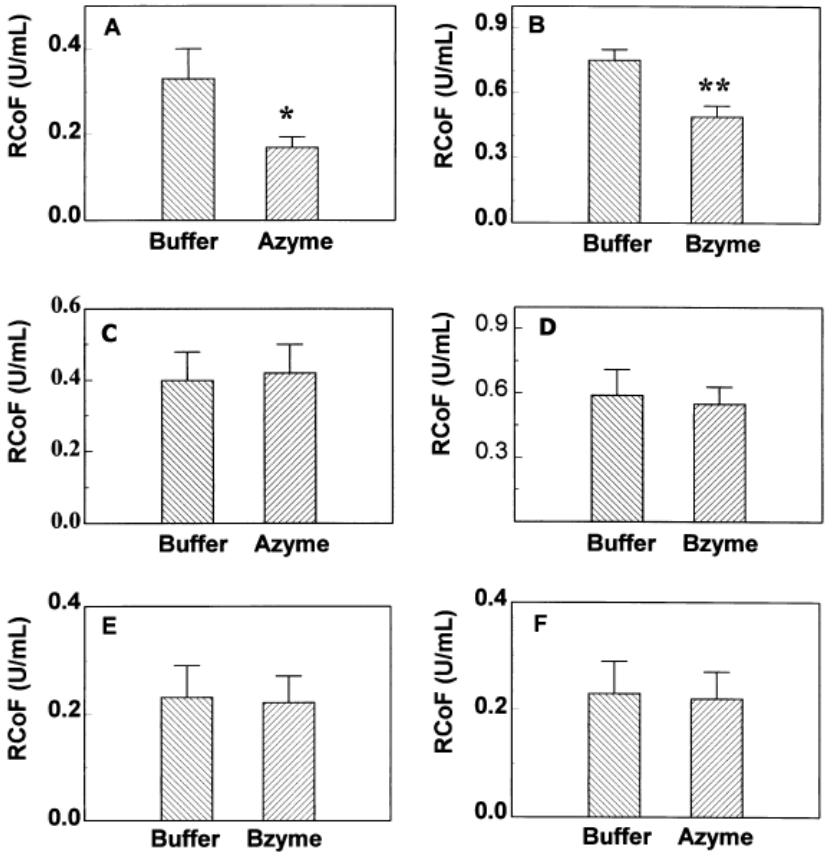


Figure 22 : Diminution de l'activité du VWF cofacteur à la ristocétine (RCoF) par élimination des antigènes A et B. [91]

(A) VWF avec déterminants antigéniques A, traité avec tampon et Azyme (*p<0.01), (B) VWF avec déterminants antigéniques B, traité avec tampon et Bzyme (**p<0.002), (C) VWF avec déterminants antigéniques O, traité avec tampon et Azyme, (D) VWF avec déterminants antigéniques O, traité avec tampon et Bzyme, (E) VWF avec déterminants antigéniques A traité avec tampon et Bzyme, (F) VWF avec déterminants antigéniques B traité avec tampon et Azyme.

Cependant l'élimination de ces déterminants n'a entrainé aucune diminution de l'activité de liaison au collagène du VWF (VWF:CB) suggérant que la distribution des multimères n'était pas affectée. Et le traitement du VWF du groupe A avec le Bzyme ou du VWF du groupe B avec l'Azyme n'était associé à aucune réduction de VWF:Rco. Sur la base de ces résultats, les auteurs ont émis l'hypothèse que l'expression des antigènes A et B pourrait jouer un rôle sur l'activité du VWF et sur la modification de sa conformation, le VWF serait moins compact et moins capable d'interagir avec les plaquettes.

Or, un certain nombre d'études réalisées sur des patients sains ont rapporté des effets différents en fonction du groupe sanguin ABO sur les tests fonctionnels du VWF (y compris VWF:Rco et VWF:CB)[92–94]. Récemment, un variant fréquent (p.Asp1472His) du VWF a été décrit chez les Afro-Américains. Ce variant atténue la capacité de liaison du VWF aux récepteurs GpIB plaquettaires en présence de ristocétine *in vitro*[95,96]**(Figure 23)**. Il existe donc un biais non négligeable dans les études incluant les tests à la ristocétine. Il serait nécessaire d'effectuer des nouveaux tests sans ristocétine. Outre les fonctionnalités normales du VWF, des études récentes montrent que le VWF joue un rôle dans l'angiogenèse, l'apoptose et la cicatrisation. Compte tenu de ces associations, des études

sont nécessaires pour étudier spécifiquement l'impact des glycanes du VWF (y compris l'expression de ABO) sur ces nouvelles fonctions biologiques émergentes.

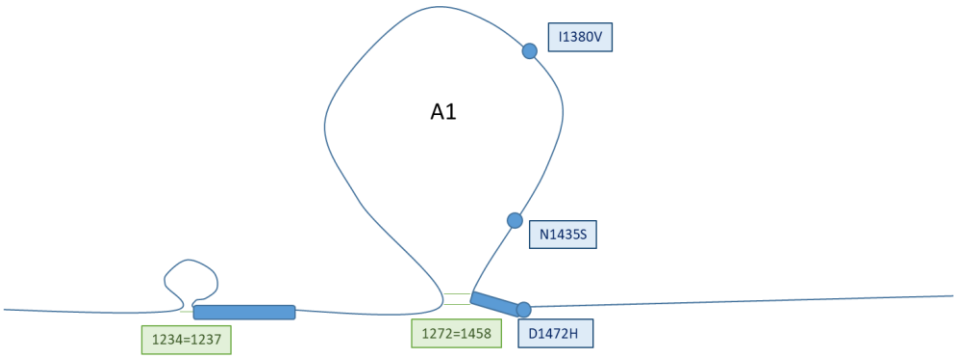


Figure 23: Mécanisme d'action de l'inhibition de la liaison du VWF à la ristocétine avec formation d'une boucle au niveau du domaine A1 [122]

4. Groupe ABO et protéolyse du VWF

Dans la circulation sanguine, le VWF circule sous forme de multimères. Les multimères de HPM se lient à la fois au collagène et à la GpIbα plaquettaire avec une affinité élevée. Dans les conditions physiologiques normales, la proportion de multimères de HPM est régulée par ADAMTS13 (A disintegrin and Metalloproteinase with ThromboSpondin Type-1 repeats). Le déficit en ADAMTS13 est associé à des multimères de VWF de très haut poids moléculaire (THPM) circulants, qui engendrent des micro-occlusions vasculaires thrombotiques à l'origine d'un purpura thrombocytopénique thrombotique (PTT)[97,98].

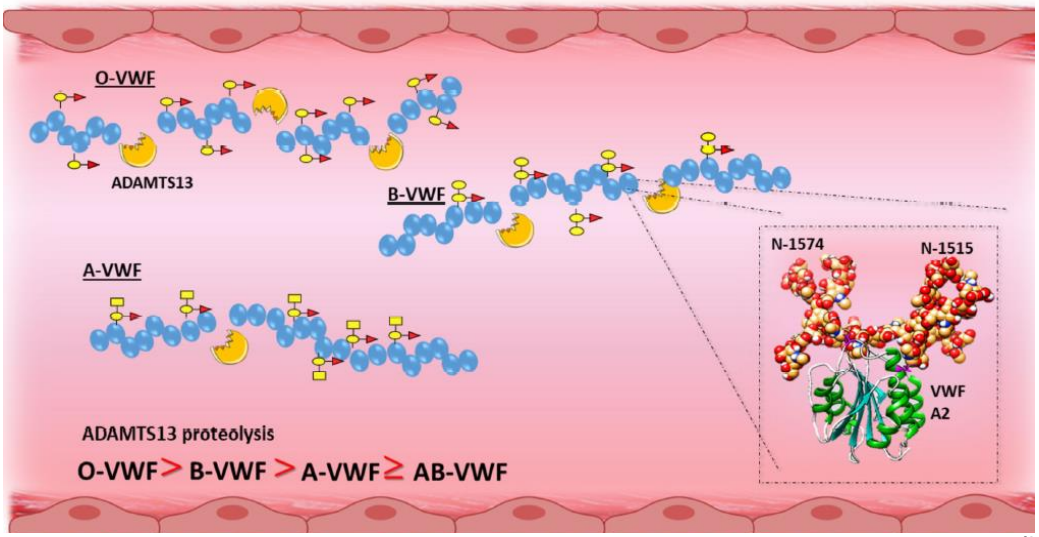


Figure 24 : Impact du système ABO sur la protéolyse du VWF par l'ADAMTS13 [38]

A l'inverse, la perte des HPM du VWF due à une protéolyse accélérée, associée à une clinique hémorragique, est caractéristique d'un phénotype de VWD de type 2A[99,100]. Bowen *et al* [101], a été le premier à montrer que les multimères du VWF des sujets O sont clivés plus rapidement par ADAMTS13 par rapport aux sujets non-O. La différence de sensibilité à

l'ADAMTS13 a également été observée parmi les autres groupes non–O, dans l'ordre suivant : B>A>AB **(Figure 24).** De plus, une autre étude confirme cette observation et montre que la protéolyse par ADAMTS13 est significativement améliorée chez les sujets de phénotype Bombay. Cela serait en lien avec la sialylation terminale différente sur les glycanes du VWF en fonction du groupe sanguin.

L'expression de l'acide sialique terminal sur les glycoprotéines, joue un rôle clef dans la protection contre la destruction protéolytique. Des études ont démontré que la désialylation du VWF entraîne une augmentation significative de la protéolyse par un certain nombre de protéases, notamment la cathepsine B, la trypsine et la chymotrypsine. Paradoxalement, des études plus récentes ont montré que l'élimination de l'acide sialique du VWF le rendait beaucoup plus résistant au clivage par ADAMTS13[102] **(Figure 25).** En particulier, la désialylation enzymatique du VWF dérivé du plasma avec la α2-3 neuraminidase a considérablement réduit la protéolyse du VWF médiée par ADAMTS-13 de manière dose-dépendante. Il est intéressant de noter que le traitement avec la α2-3 neuraminidase pour digérer spécifiquement l'acide sialique lié à l'α2-3 des O-glycanes du VWF dérivé du plasma n'a pas eu d'effet significatif sur la protéolyse par ADAMTS13. L'ensemble de ces données suggère que la sialylation sur le VWF dérivé du plasma peut jouer un rôle critique dans l'augmentation de la sensibilité du VWF à la protéolyse par ADAMTS13. Bien que le mécanisme moléculaire qui sous-tend cet effet de sialylation ne soit pas clair, des études de mutagenèse dirigée ont suggéré un rôle important des N-glycanes au niveau domaine A2 du VWF dans la régulation de la protéolyse par ADAMTS13[87,102].

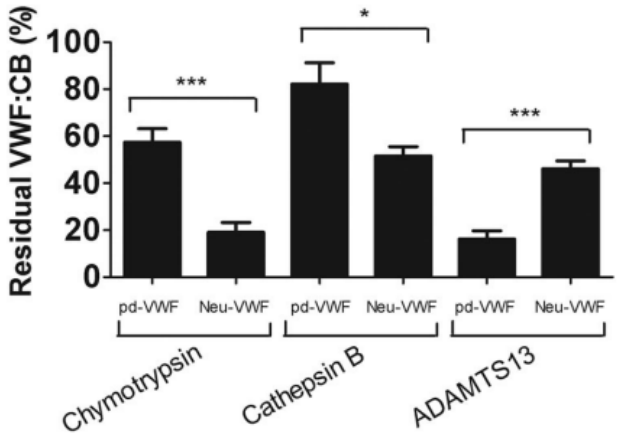


Figure 25 : Protéolyse du VWF en fonction de son état de sialylation [102].

Pour déterminer l'effet de la désialylation du VWF sur sa sensibilité à la protéolyse, le pd-VWF(VWF sialylé) et VWF traité par la neuraminidase pour donner le VWF-Neu (VWF-désialylé) puis soumis à un clivage par la chymotrypsine (60 U/mg VWF), la cathepsine B (4 U/mg VWF), et ADAMTS13 (500nM/mg VWF) à 37°C pendant 90 minutes.

De plus, des études de fluorimétrie différentielle à balayage ont montré que la glycosylation de N1574 joue un rôle dans la stabilisation du domaine A2 évitant l'accessibilité à ADAMTS13. Ces données sont intéressantes puisque les déterminants du groupe sanguin ABO sont fortement exprimés sous forme de sucres terminaux sur les chaines de glycanes complexes au niveau de N1574[103]. Le degré de sialylation au niveau des N-glycanes est considérablement réduit sur le VWF d'origine plaquettaire par rapport au VWF plasmatique. Il est intéressant de noter qu'en raison de ce changement quantitatif dans l'expression de l'α2-6-acide sialique terminal, le VWF plaquettaire présente une résistance spécifique à la protéolyse médiée par ADAMTS13 par rapport au VWF plasmatique[87].

5. Groupe ABO et clairance du VWF

Le VWF est une protéine plasmatique et sa durée de vie est limitée comme toute protéine. La clairance du VWF plasmatique s'effectue au niveau du foie et de la rate selon une cinétique indépendante de la taille des multimères. Les cellules endothéliales[49] et les cellules macrophagiques situées au niveau du foie[104,105] semblent contribuer à la clairance du VWF via l'expression de récepteurs membranaires dont la capacité à fixer le VWF varie en fonction de son degré de glycosylation. Le récepteur ASPGR exprimé à la surface des macrophages[50,105,106] et des hépatocytes, intervient essentiellement dans la clairance du VWF hyposialylé. D'autres récepteurs semblent impliqués dans la clairance du VWF sialylé comme le récepteur macrophagique Siglec-5, le récepteur endothélial CLEC4M, et le récepteur LRP-1 en fonction des forces de cisaillement physiologique **(Figure 26).**

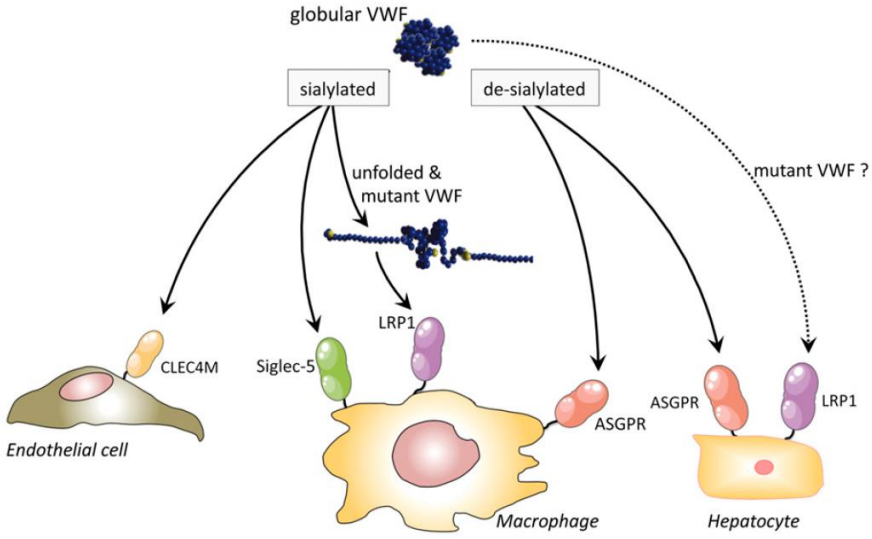


Figure 26 : Clairance du VWF en fonction du système ABO *in vivo* [18]

Le profil de glycosylation du VWF peut également modifier l'intensité de la clairance du VWF. On observe en effet des taux de VWF plasmatique significativement plus bas chez les sujets de groupe O versus non O en lien avec une clairance plus rapide du VWF. Il a été démontré que la clairance accélérée du VWF joue un rôle clef dans la pathologie de Willlebrand[52,107]. Mais le mécanisme lié au groupe O est inconnu et il est indépendant de la protéolyse par ADAMTS13[104,108]. Par conséquent, la sensibilité à la protéolyse par ADAMTS13 et l'augmentation de la clairance sont deux phénomènes indépendants chez les sujets du groupe O.

L'hypothèse d'un effet du groupe ABO sur le taux plasmatique de VWF:Ag, principalement dû aux différences de clairance du VWF, en fonction du groupe sanguin semble se dégager. Gallinaro *et al*[109]*,* montre que la demi-vie du VWF est significativement plus courte chez les sujets sains de groupe O que chez les sujets sains non-O (10 contre 25.5 heures respectivement). Conformément à ces résultats, le ratio VWFpp/VWF :Ag est également significativement plus élevé chez les sujets de groupe O[110]. Une autre étude a montré que la demi-vie du FVIII recombinant (FVIIIr) est significativement diminuée chez les patients de groupe O atteints d'hémophilie A sévère[111]. Le FVIII étant transporté et protégé par le VWF, l'effet ABO est probablement indirectement lié aux différences de clairance du VWF endogène.

Mais dans ce contexte, Groenved *et al.* ont récemment rapporté que le système sanguin ABO n'avait pas d'effet sur la clairance du VWF humain chez la souris. Les souris n'expriment cependant pas les déterminants antigéniques du groupe A et B[112]. La clairance du VWF d'origine humaine est nettement augmentée par rapport à celle du VWF endogène chez la souris[113]. Un certain nombre de récepteurs de lectine de type C dont CLEC4M[48], MGL[53] et ASGPR[43] sont impliqués dans la régulation de la clairance du VWF (CLEC4M et SIGLEC-5 ne sont pas exprimés chez la souris[52]). Bien que la sialylation du VWF soit essentielle pour moduler la clairance par ces cellules, il n'y a aucune preuve que les déterminants antigéniques ABH influencent la liaison à l'un de ces récepteurs des lectines. Donc d'autres études seront nécessaires pour déterminer comment les déterminants N-glycanes ABH sur le VWF peuvent influencer la clairance physiologique *in vivo.*

6. Groupe ABO et plaquettes

- ***Généralités***

Les plaquettes n'expriment pas les N-glycanes mais expriment des glycoprotéines et glycolipides différentes à la surface de sa membrane[114]. Les antigènes ABH se trouvent sur les glycoprotéines GPIb, IIa, IIIa, IV et sur la molécule d'adhésion des cellules endothéliales plaquettaires (PECAM-1)[115–117]. Sur les sites de lésion vasculaire, le VWF joue un rôle clef dans la facilitation de la formation du clou plaquettaire en agissant comme un pont entre le collagène, les cellules du sous-endothélial exposées et ses récepteurs spécifiques exprimés à la surface des plaquettes[118]. En condition de forces de cisaillement élevées, le VWF est capable d'interagir avec les complexes GPIb-IX-V et GPIIb-IIIa. L'observation selon laquelle les glycanes ABH sont exprimés sur ces récepteurs, a conduit à l'hypothèse que le groupe sanguin ABO pourrait également avoir un impact sur l'hémostase primaire en influençant la fonction plaquettaire[114]. Cette hypothèse est étayée par un certain nombre de récentes preuves scientifiques.

- ***Étude GAIT-2[119]***

Tout d'abord, dans le cadre de la thrombophilie idiopathique (GAIT-2), une étude d'association pangénomique (GWAS) a été réalisée pour identifier les facteurs influençant l'hémostase primaire mesurée à l'aide du système Platelet Function Analyzer (PFA-100) (Siemens Healthcare Diagnostics)[119]. Le PFA-100 est un instrument automatisé développé pour évaluer et dépister dans un premier temps l'hémostase primaire sous force de cisaillement élevée *in vitro*. Les temps d'occlusion du PFA-100 sont connus pour être influencés par des variables telles que le nombre de plaquettes, la fonction plaquettaire, les taux de VWF: Ag et l'activité du VWF[120].

Les résultats du GAIT-2 permettent d'évaluer un LOD score, on suggère un lien si le LOD score est supérieur à 1. Ils ont montré que le *locus ABO* sur le chromosome *9q34.2* est le déterminant génétique majeur dans les concentrations de VWF :Ag avec un score LOD à 3.46 avec une p-value significative ($p<0.00003$) **(Figure 27)** alors que contrairement au chromosome *19* où se situe le *FUT1/FUT2,* le LOD score est inférieur à 1. Ils en concluent que le *locus ABO (chromosome 9*) représente alors le principal déterminant des temps d'occlusion du PFA-100 pour les cartouches Col-EPI et Col-ADP. Dans les expériences sur Col-EPI, l'effet du système ABO était attribuable à des modifications des taux plasmatiques de VWF-FVIII. En revanche, dans les expériences avec les cartouches de Col-ADP, l'influence du système ABO sur les taux de VWF-FVIII n'a été que partiellement expliquée et n'est pas significative, ce qui suggère que des mécanismes supplémentaires du système ABO pourraient également être impliqués[80,119].

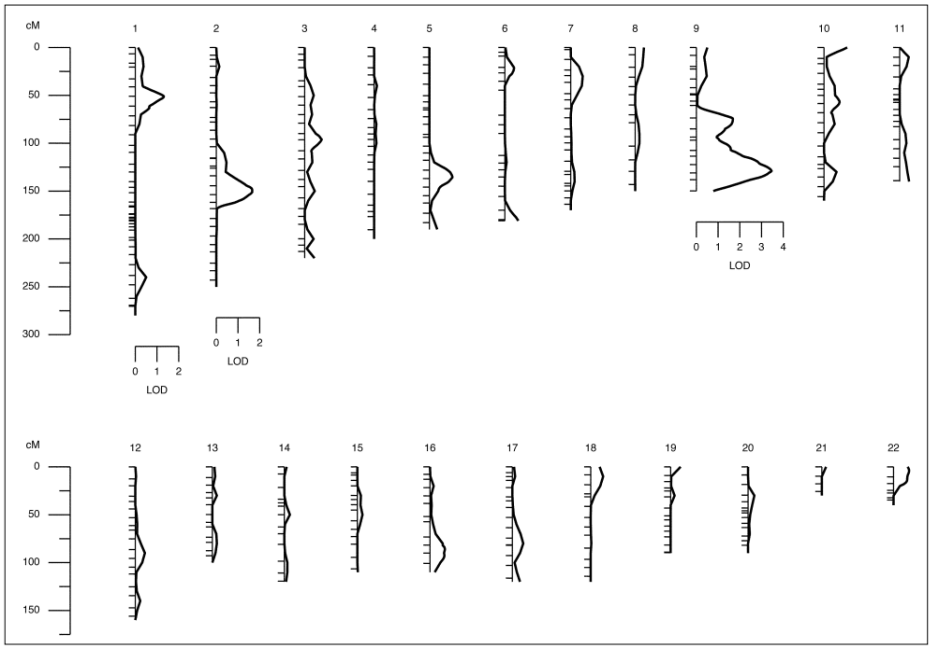


Figure 27: Analyse de liaison avec détermination du LOD scores [104]

- ***Étude de Dunne et al.* [121]**

Deuxièmement, des données récentes suggèrent que l'expression ABO sur le récepteur GPIb plaquettaire peut influencer la capacité de cette glycoprotéine à interagir avec le VWF. Dans l'étude de Dunne *et al*[121], l'hypothèse émise est que la fonction des plaquettes serait différente en fonction du groupe sanguin. Ils ont observé que les sujets de groupe sanguin O sont associés à un risque plus faible de faire un infarctus du myocarde (sachant que les plaquettes jouent un rôle important dans cette pathologie). Ils ont perfusé du sang total sur du VWF immobilisé et coaté sur plaque, dans des conditions de force cisaillement d'un flux artériel, puis ils ont évalué les plaquettes des sujets de groupe sanguin O par rapport aux plaquettes des sujets de groupe non-O à l'aide du microscope à caméra intégrée. Ils ont observé une réduction significative de la capacité des plaquettes des sujets de groupe O à interagir avec VWF du même groupe dans ces conditions. De plus, les plaquettes du groupe O adhéraient de manière moins stable à la surface du VWF par rapport aux plaquettes de sujets de groupe non-O. Une modélisation ultérieure a suggéré que les différences observées entre les différents types de plaquettes ABO étaient probablement liées à des altérations de la cinétique de liaison du GPIb-VWF **(Figure 28**)[121].

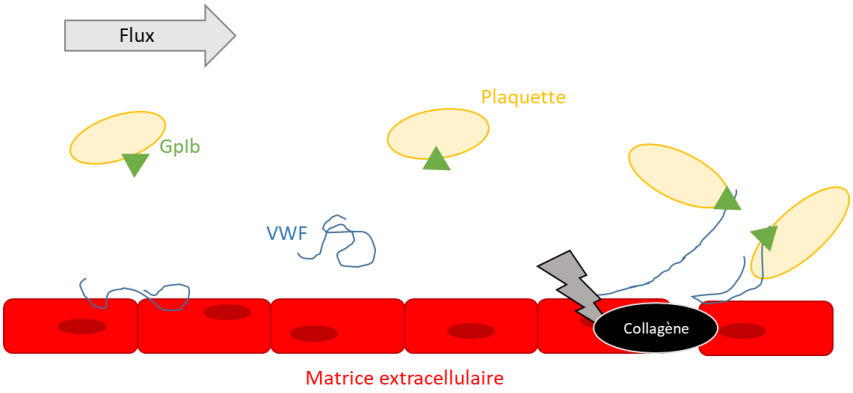


Figure 28 : Interaction des plaquettes (GpIb) avec le VWF

Cependant, le mécanisme par lequel les groupes ABO influencent la biologie du récepteur GPIb plaquettaire n'a pas encore été défini. Des études supplémentaires seront également nécessaires pour déterminer si l'expression du système ABO sur d'autres récepteurs de la membrane plaquettaire peut influencer leur activité fonctionnelle (par exemple, la capacité d'interagir avec le collagène ou le fibrinogène). Néanmoins, un effet du système ABO sur la fonction plaquettaire peut contribuer à l'augmentation des saignements observés chez les sujets du groupe O avec des taux de VWF bas[122].

Il est intéressant de noter que plusieurs études antérieures ont démontré qu'un sous-ensemble d'individus normaux de groupe A et B expriment des niveaux significativement plus élevés d'antigènes A et B respectivement sur leur surface plaquettaire. La surexpression des antigènes A et B est estimée à 7% de la population normale du groupe A ou B. On ne sait pas si cette surexpression sur les glycoprotéines de surface des plaquettes a une signification physiologique ou pathologique [123,124].

7. Groupe ABO et le complexe VWF-FVIII

- ***Généralités***

Le VWF circule dans le plasma dans un complexe non covalent avec le cofacteur de coagulation FVIII. Le VWF protège le FVIII contre la protéolyse et la clairance. Le taux plasmatique de VWF influence fortement le taux plasmatique de FVIII[22]. Un ensemble de *loci non-VWF* modifie le taux plasmatique de VWF, et ces *loci* ont tendance à modifier de façon concomitante le taux de FVIII. Ce taux de VWF :Ag influence donc les tendances hémorragiques ou thrombotiques, et peut également être impliqué dans une modification du taux plasmatique de FVIII.

- ***L'influence des variants sur le VWF : Ag et FVIII :C***

Les anomalies qualitatives du VWF qui impliquent des variants pathogènes dans la région du VWF D'D3 et altèrent la liaison du FVIII, entraînent une VWD de type 2N. Des études récentes ont suggéré que, pour chaque variation d'environ 1% des taux plasmatiques de VWF, les taux de FVIII: C changeraient d'environ 0,54%. Par conséquent, il s'ensuit que la majorité des *loci non-VWF* est également associée à l'activité du FVIII, bien que l'ampleur de l'influence puisse être inférieure. Il est important de noter que le statut sérologique du groupe sanguin ABO et d'autres variants modifient la clairance du VWF et influencent la pharmacocinétique chez les patients atteints d'hémophilie A substitué par du FVIII[125].

L'analyse du score de risque génétique (GRS) est une approche de plus en plus utilisée pour apprécier et prédire un risque individuel en fonction d'une pathologie. Dans le cadre de la TV, le *locus ABO* est un paramètre sensible pour le GRS de cette pathologie, or il n'y pas de consensus établi. L'article de Goumidi L. *et al*[11], analyse les différents haplotypes *ABO* en relation avec l'activité des GT et l'impact sur les taux plasmatiques de VWF et FVIII. L'analyse des haplotypes a montré que les haplotypes *A1* et B présentent un risque similaire de faire une TV (OR 1.8) et que l'haplotype *A2* est également associé mais plus modestement (OR 1.2) **(Figure 29)**.

ABO blood group	rs2519093	rs8176719	rs579459	rs1053878	rs8176743	rs41302905	Frequency[1]	OR for VT[2]	Impact on VWF/FVIII levels[4]	Impact on ICAM1 levels[4]
O1	C	delG	T	G	C	C	0.63	reference	reference	reference
O2	C	G	C	G	C	**T**	0.02	0.70[3] [0.57 – 0.86]	-	-
A1	**T**	G	C	G	C	C	0.20	1.78 [1.67 – 1.92]	↑↑↑	↓↓↓
A2	C	G	T	**A**	C	C	0.07	1.16 [1.03 – 1.31]	↑	↓
B	C	G	T	G	**T**	C	0.08	1.76 [1.58 – 1.96]	↑↑↑	-

[1] Haplotype frequencies in European ancestry populations
[2] Haplotypic risk estimate [95% Confidence Interval] for VT obtained from the meta-analysis of results listed in Supplementary Tables 1-6
[3] This risk estimate exhibited statistical heterogeneity ($p = 1.210^{-3}$) across the 6 investigated studies
[4] Direction (↑= increase; ↓= decrease) of haplotype effects on plasma levels. Strong compared to modest effects are illustrated with three arrows instead of one.

Figure 29 : Haplotypes du système ABO en fonction du risque de TV et l'impact sur les taux de VWF/FVIII, ICAM1 [11]

Ce travail ne vise pas à encourager l'utilisation des haplotypes dans la pratique mais permet de souligner l'utilisation des haplotypes plutôt qu'un seul SNP lors de l'évaluation de l'impact du *locus ABO* par rapport au risque de TV. En plus de l'analyse du risque thrombotique, l'analyse des biomarqueurs endothéliaux a été effectuée. L'hypothèse émise est que la relation entre le risque TV et le système sanguin ABO modifie les expressions des GT. Le *locus ABO* influence le degré de glycosylation du VWF et par conséquent sa clairance et/ou son clivage par ADAMTS13. Cela expliquerait la relation robuste entre le groupe ABO et le

taux plasmatique de VWF:Ag et FVIII :C. Mais le risque TV ne peut pas être expliqué uniquement par le mécanisme dépendant du VWF. En effet, il a été démontré que l'association entre le groupe ABO et TV persiste après l'ajustement des taux plasmatiques FVIII :C et VWF :Ag[126]. On peut voir sur le tableau **(Figure 29)** que seuls les haplotypes *A1* et *A2* sont associés à des variations de concentrations plasmatiques d'ICAM-1. Et, on remarque que les taux plasmatiques en VWF:Ag et FVIII :C varient dans le sens inverse des taux de la molécule d'adhésion ICAM-1. D'autres travaux supplémentaires seraient nécessaires pour avoir une analyse approfondie comme d'autres biomarqueurs tels que la P-selectine, E-sélectine et l'exploration dans d'autres pathologies cardiovasculaires. Malgré l'utilisation des SNP imputés avec grande précision, on ne peut pas exclure la variabilité des fréquences estimées des haplotypes avec le phénotype correspondant. Les haplotypes les plus communs des personnes caucasiennes sont évalués mais les groupes sanguins rares tels que *A3* et *O3* ne sont pas abordés dans cet article[11]. Il serait intéressant d'étudier cet effet des haplotypes sanguins les plus communs, sur le taux de VWF :Ag dans une population présentant un taux de VWF quantitativement bas et à risque de saignement, comme la VWD.

8. Problématique du type 1 de VWD et les taux bas en VWF

- ***Maladie de Willebrand de type 1***

La maladie de Willebrand est la pathologie hémorragique constitutionnelle la plus fréquente. Elle peut être d'origine d'un quantitatif ou qualitatif du VWF. La définition clinique du déficit quantitatif partiel de VWF, historiquement appelée VWD de type 1, est variable, avec un taux plasmatique de VWF:Ag compris entre 3 à 50 U/dL (**Figure 30**). Pour la majorité de ces patients, on retrouve des SNV pathogènes entraînant des substitutions faux-sens qui peuvent être dans les régions codantes du *VWF*. Certains SNV se situent dans des zones non codantes comme au niveau du promoteur ou au niveau des zones de transition entre les introns et exons du *VWF*[127–129]. Bien que de rares cas récessifs de la VWD de type 1 aient été rapportés, la pathologie est principalement à transmission autosomique dominante[130].

Environ 85% des cas de VWD de type 1 sont associés à un défaut de synthèse, de stockage et/ou de sécrétion du VWF par l'endothélium. Les variants de sécrétion de la VWD type 1 ont tendance à se localiser dans les domaines D1, D2 et D3 du VWF et peuvent entraîner une rétention intracellulaire dans le réticulum endoplasmique, une formation irrégulière de WPB ou une sécrétion réduite[131–133]. De rares cas de diminution de la synthèse du VWF liée à des variants du promoteur du VWF ont également été décrits[134].

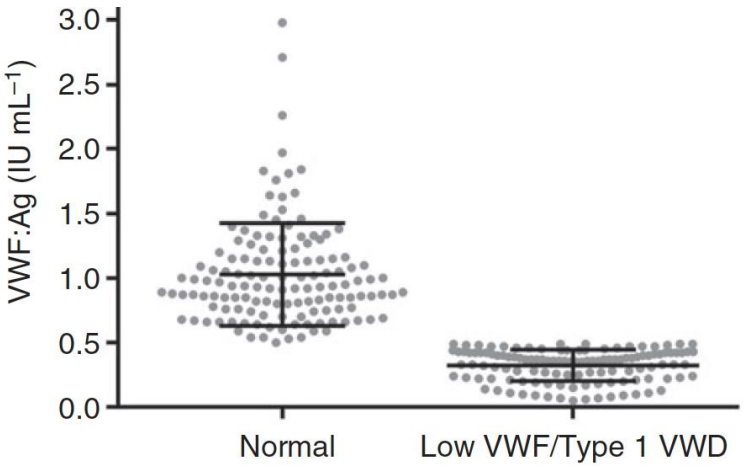


Figure 30 : Taux de VWF:Ag en fonction d'une population saine et population de "low VWF"/Type 1 VWD [62]

La nomenclature de la VWD de type 1C est souvent utilisée pour décrire des variants à clairance accélérée, qui constituent environ 15% de tous les cas de type 1[110,135]. Bien que les individus normaux de groupe sanguin O et les patients atteints d'une mutation p.Thr1205His de VWD de type 1C «Vicenza» de groupe O (les mutations pathogènes de type 1C sont le plus fréquemment observées dans les domaines D3, A1 et D4 du VWF), présentent une demi-vie réduite du VWF en réponse au traitement par la desmopressine (DDAVP)[109,136], la ou les voies de clairance impliquant cet effet sont actuellement

inconnues. Mais elles suggèrent que les glycanes ABH peuvent également contribuer au phénotype de clairance du VWF[137].

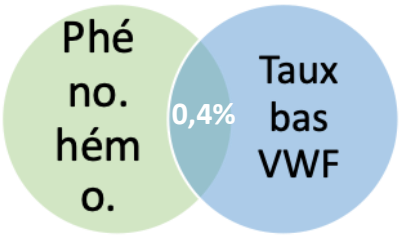
Le rapport VWF propeptide sur VWF:Ag (VWFpp/VWF:Ag) utilisé comme mesure de substitution de la clairance du VWF, a indiqué que la clairance accélérée se produit plus fréquemment dans les états de déficit VWF les plus sévères. Bien que peu de choses soient actuellement connues concernant le mécanisme par lequel ces variants régulent la demi-vie du VWF, ils peuvent altérer la glycosylation ou la conformation de la molécule de VWF, et probablement augmenter la clairance du VWF :Ag[110].

Le diagnostic de la VWD de type 1 peut être compliqué par la variabilité de la pénétrance et de l'expressivité phénotypique de ces variants. Par exemple, plusieurs études ont maintenant montré que les variants pathogènes identifiés chez les sujets européens de la VWD de type 1 peuvent avoir des fréquences alléliques mineures de 10 à 20% chez les individus afro-américains asymptomatiques normaux[68–70]. Bien que ce phénomène puisse être partiellement lié à une fausse attribution de ces variants à la pathologie, la caractérisation *in vitro* a démontré que certains de ces variants présentent des défauts quantitatifs mineurs. Ainsi, il semble probable que ces variants mineurs de type 1 co-ségréguent avec des variants ethniques qui modifient leur pathogénicité, ou le phénotype hémorragique et qui vont être influencés à des interactions environnementales[138,139].

Le protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) Maladie de Willebrand de septembre 2018 recommande de connaitre le statut sérologique du système ABO pour l'interprétation du taux plasmatique de VWF. En effet, Haberichter *et al*[110], a observé une variabilité des niveaux de VWF:Ag et VWFpp chez les membres de la même famille affectée par VWD de type 1. Le taux plasmatique de VWF:Ag chez les individus malades de groupe sanguin O étaient significativement plus bas que ceux du groupe A *(p=0.013).* Une étude précédente, portant sur la VWD type 2N, a montré que le taux de VWF :Ag était significativement plus bas chez les sujets du groupe O[136] que chez les sujets de groupe non-O, quelle que soit leur mutation. En outre, selon le groupe sanguin ABO, de nombreuses variables, comme l'âge, le sexe ou des facteurs environnementaux, pourraient avoir une influence sur le ratio VWFpp/VWF:Ag.

- ***Les taux bas en VWF***

Dans la revue de Sadler *et al*, l'équipe met en évidence une prévalence élevée des signes hémorragiques dans la population générale, et considère que 0.4% de la population saine a un phénotype de VWD (avec présence de saignements, VWF:Ag à taux faible et antécédents familiaux d'hémorragie) par hasard[140].



Il existe un continuum entre la VWD et les taux bas en VWF ce qui rend le diagnostic de VWF de type 1 moins aisé. Chez ces sujets à taux bas, on ne retrouve pas de mutations dominantes du *VWF* mais ils présentent un phénotype hémorragique significatif (ISTH-BAT score). Mais d'après les récentes recommandations ASH ISTH NHF WFH 2021[141], les experts ne différencient plus les taux bas de VWF des VWD de type 1. La VWD de type 1 est nouvellement définie par un taux de VWF :Ag <30 % sans symptomatologie hémorragique avérée ou un taux de VWF :Ag <50 % s'il existe une symptomatologie hémorragique nette.

Dans l'ensemble, 44 à 55% des patients présentant un déficit quantitatif partiel du VWF entre 30 et 50 % ont une mutation délétère identifiée dans leur région codante du *VWF* ou au niveau du site d'épissage[129,142–144]. Les variations de caractère quantitatif *non-VWF* peuvent contribuer au phénotype de taux bas en VWF, en l'absence de variant pathogène du *VWF*. L'effet de l'âge est à prendre en compte dans l'interprétation de ces bilans. En effet, on observe une élévation de 10 à 15 UI/dL/an des taux de VWF[145]. Avoir 35% de VWF à 40 ans n'a donc pas la même signification qu'à 15 ans ou à l'inverse, un taux de VWF:Ag à 35% n'a donc pas la même signification à 40 ans qu'à 15 ans.

L'effet du système ABO doit également être pris en compte dans cette population de patients. Les patients de groupe O peuvent, en effet, avoir des taux physiologiquement inférieurs à 50 UI/dL sans manifestations cliniques hémorragiques. Les études confirment la prévalence du groupe sanguin O chez les patients ayant des taux de VWF bas, avec une fréquence de variants pathogènes retrouvés beaucoup plus importante chez les sujets de groupe non O[146]. Ce qui signifie que le groupe O est un élément déterminant du taux de VWF entre 30 et 50 U/dL, alors que c'est plutôt un variant du gène VWF qui explique le VWD de type 1 quand le taux plasmatique de VWF est inférieur à 30 U/dL. A ce jour, on ne différencie pas les sous-groupes sanguins, seul le statut sérologique groupe O ou non-O du patient est pris en compte pour l'interprétation du taux de VWF :Ag.

Au total, d'après le PNDS de la maladie de Willebrand, la découverte d'un taux de VWF inférieur à 50% nécessite le recours à une consultation d'hémostase spécialisée afin d'évaluer le score hémorragique, à la recherche au cas par cas des patients qui nécessiteront un traitement par la desmopressine pour encadrer les procédures invasives.

	Type 1	Taux bas ou « low VWF »
Taux	<30	30-50
Mutation délétère	75-100%	44-55%
Score hémorragique	Augmenté	Parfois augmenté (femmes++)
Antécédents familiaux	Présents	Moins
Proportion de sujets O	+ élevée	+++ élevée
Suivi par un centre de maladies hémorragiques constitutionnelles	Oui	Au cas par cas selon la clinique
DDAVP	Oui	Au cas par cas selon la clinique

Tableau 5 : Tableau récapitulatif de VWD de type 1 et les taux bas en VWF

DISCUSSION

Le gène *ABO* est très riche en variations de séquence, liées à l'évolution de la lignée humaine et aux épidémies, par sélection naturelle des gènes les plus favorables à sa survie[8]. Le système sanguin ABO est constitué de glycanes qui forment les antigènes A, B et H (ABH) à la surface du globule rouge. Ce sont majoritairement des N-glycanes (conjugaison de glycanes sur des asparagines) et plus rarement de O-glycanes. Les N-glycanes représentent 60-70% des sucres à la surface du globule rouge[14]. La structure de base est la structure H qui est codée par le gène *FUT1,* indépendamment du gène *ABO*. Cette structure H est aussi appelée antigène O ou « zéro ». En fonction de l'expression de la GT A ou B, un N-acétylgalactosamine ou un galactose sera ajouté sur la structure H, permettant de former l'antigène A ou B respectivement. De plus, l'expression des différentes GT varient au sein d'un même groupe sanguin, ce qui permet d'avoir des sous-groupes tel que A1, A2, O1 et O2. Par exemple, l'expression des GT A1 et A2, isotypes de la GT A, sur les GR A1 et A2, est différente, ce qui conditionne le taux d'antigène A et H à la surface de l'érythrocyte[14]. La glycosylation est impliquée dans les mécanismes de dégradation de protéines, signalisation et trafic cellulaire, défense immunitaire et dans les interactions hôte-pathogène[12]. Les antigènes ABH sont exprimés dans différents tissus, au niveau des cellules épithéliales, des cellules neuronales mais aussi sur des protéines sanguines comme le facteur Willebrand (VWF)[15].

Certaines études montrent que les sous-groupes ABO ont une importance sur les niveaux d'expression du VWF :Ag et du FVIII. Les sujets de groupe O présentent des taux de VWF environ 25% plus bas que les sujets de groupe non-O[147]. Sousa *et al*[85] montrent que les taux de VWF:Ag et FVIII sont aussi bas chez les sujets de sous-groupe A2O que chez les sujets de sous-groupe OO. Il en est de même dans l'étude de O'Donnell *et al*.[86] qui montre que la quantité de glycanes H exprimée sur le VWF peut varier de façon importante et que l'expression du glycane H est modulée par les GT A ou B. La publication récente de Goumidi *et al*[11] qui compile les résultats de 6 études regroupant 5425 cas et 8445 contrôles, démontre que le risque thrombotique veineux est supérieur dans le groupe B par rapport à A et dans A par rapport à O. Le sous-groupe A1 est à risque plus élevé que A2 et O1 par rapport à O2. Cette même différence est observée sur le taux de VWF :Ag et FVIII :C, mais pas sur la molécule d'adhésion ICAM. Au total, on peut déduire de ces études que le taux de VWF:Ag est plus élevé dans le haplotype *A* que *O* et surtout dans les sous-groupes de la manière suivante : A1A1 > A1O1> A2O1 ou O1O1. La concentration plasmatique de VWF est donc la résultante d'un équilibre entre sa synthèse et sa clairance et qui s'explique donc en partie par l'activité des GT.

Le VWF est une glycoprotéine multimérique plasmatique, essentielle pour l'activité pro-hémostatique. Il possède un rôle à la fois dans l'hémostase primaire, par son action sur la mégacaryopoièse[26,27] et la formation du clou plaquettaire. Il a également un rôle dans la coagulation plasmatique, en étant protéine chaperonne du facteur VIII et qu'il protège d'une dégradation prématurée[22–25]. En plus d'une activité pro-inflammatoire[28,29], il joue un rôle important dans l'angiogenèse[30,31], la prolifération cellulaire et l'apoptose[32]. Les taux plasmatiques retrouvés chez les sujets sains, varient de 50 à 150 UI/dL. Un taux plasmatique bas de VWF (<50 UI/dL) peut être associé à un risque hémorragique alors qu'un taux élevé (>150 UI/dL) augmente le risque thrombotique veineux[54]. Bien que les facteurs environnementaux aient une influence forte sur le taux de VWF plasmatique, on estime que sa variabilité sanguine est à 65% d'origine héréditaire. Il est intéressant de noter que le gène *VWF* ne représente que 5% de cette variabilité alors que celle du *locus ABO* en représente 25%[125].

Le VWF est une protéine fortement glycosylée et sialylée. Les N et O glycosylations ont lieu dans le RE et l'appareil de Golgi. Les N-glycanes et O-glycanes présents sur le VWF sont identiques à ceux retrouvés à la surface des GR par le groupe sanguin ABO. Les niveaux de glycosylation diffèrent en fonction des domaines du VWF. Par exemple, le domaine A2 est très fortement glycosylé comparé aux domaines D'D3[39,40]. Les individus de phénotype Bombay, déficient en *FUT1/2,* sont dépourvus d'antigène H. Ils ont également des taux plasmatiques de VWF plus bas que les sujets de groupe A, B ou O, suggérant que l'activité de la fucosyltransférase codée part *FUT1/2* est un régulateur important sur ces taux plasmatiques[18]. La majorité des glycanes présents sur le VWF vont subir une sialylation dans le RE[125]. Ils seront recouverts d'un acide sialique formant une coiffe, qui augmente la sensibilité à la protéolyse par ADAMTS13 mais qui le protège d'une protéolyse prématurée par la chymotrypsine et la cathepsine B[39]. Bowen *et al.*[101] a été le premier à montrer que les multimères du VWF des sujets de groupe O sont clivés plus rapidement par ADAMTS13 par rapport à ceux des sujets non-O (B>A>AB). En plus des antigènes sialylés, le glycane sur l'asparagine 1574 stabilise le domaine A2, évitant l'accès à ADAMTS13. Le système ABO régule donc activement la protéolyse du VWF.

Au niveau du foie, les macrophages et les cellules endothéliales contribuent à la clairance du VWF[104], indépendamment du système ABO. Un certain nombre de récepteurs sont impliqués dans la régulation de la clairance du VWF. L'interaction des N-glycanes avec le VWF des récepteurs comme CLEC4M, MGL, ASGPR, la famille SIGLEC-5, réduit l'internalisation de celui-ci et évite ainsi sa clairance prématurée[113]. Des études seront néanmoins nécessaires pour déterminer comment les antigènes ABH influencent la clairance physiologique du VWF *in vivo*. Certains travaux montrent que les antigènes ABH influent sur la fonctionnalité du VWF[90,91]. Dans ces études, l'activité du VWF était mesurée par VWF :RCo (activité cofacteur à la ristocétine). Or, il a été démontré récemment que la

variation de séquence p.Asp1472His, très fréquente chez les sujets afro-américains, était associée à un ratio VWF:RCo/VWF :Ag abaissé, s'expliquant par un défaut de liaison du VWF à la ristocétine *in vitro,* sans aucun impact clinique[95,96]. Il existe donc un biais non négligeable dans l'interprétation de ces tests. Des études supplémentaires utilisant des tests fonctionnels sans ristocétine seraient nécessaires afin d'évaluer le réel impact du groupe sanguin sur la fonctionnalité du VWF.

Si le lien entre le génotype *ABO* et le risque de thrombose veineuse est établi depuis des années, il n'en est pas de même concernant le risque hémorragique. Le groupe sanguin ABO impacte également directement l'activité des glycoprotéines nécessaires à l'adhésion plaquettaire. Contrairement au VWF, les plaquettes n'expriment pas les antigènes *ABO* sur des N-glycanes mais sur les glycoprotéines GpIb, IIa, IIIa, IV, V et la protéine adhésion PECAM-1[115–117]. Les complexes GpIb-IX-V et GPIIb-IIIa jouent un rôle essentiel dans la liaison des plaquettes au sous-endothélium riche en collagène et dans les liaisons interplaquettaires. L'étude GAIT-2[119] suggère que le temps d'occlusion du PFA-100 (Col-EPI et Col-ADP) est modulé par le groupe sanguin, reflet indirect des taux de FVIII et VWF du patient. Dunne *et al*.[121] font l'hypothèse que les glycanes ABO localisés sur les glycoprotéines GpIb plaquettaires jouent un rôle dans l'interaction plaquettes-VWF. Ils montrent que les plaquettes de sujets de groupe O réagissent moins bien sur le VWF que les plaquettes des sujets de groupes non-O dans les conditions de shear stress. Ce mécanisme pourrait être un argument supplémentaire, pour expliquer le risque hémorragique plus important chez les sujets de groupe O comparés aux non-O.

La maladie de Willebrand (VWD) est la plus fréquente des maladies hémorragiques constitutionnelles. Elle correspond à un déficit héréditaire quantitatif ou qualitatif en VWF. Il existe différents types et sous-types de VWD, chacun caractérisé par un profil phénotypique spécifique[22]. La VWD de type 1 correspond à un déficit quantitatif partiel en VWF. Historiquement[140], la VWD de type 1 est définie par un taux de VWF :Ag <30% et un VWF :Act/VWF :Ag>0,7. Mais selon les très récentes recommandations ASH ISTH NHF WFH 2021[141], la VWD de type 1 est définie par un taux de VWF :Ag <30 % sans symptomatologie hémorragique avérée ou un taux de VWF :Ag <50 % s'il existe une symptomatologie hémorragique nette.

L'interprétation du taux de VWF:Ag doit prendre en compte le groupe ABO mais aussi d'autres paramètres comme le sexe, l'âge, la présence d'une grossesse ou d'un syndrome inflammatoire et la symptomatologie hémorragique. Dans le sous-type 1C « Vicenza » à clairance accélérée, le VWF présente une demi-vie réduite expliquée par une clairance accélérée. Chez ces patients la réponse à la desmopressine est bonne mais fugace[109,137]. Les patients Vicenza de groupe O ont une clairance encore plus accélérée par rapport ceux de groupe non-O, ce qui suggère l'existence de mécanismes additionnels non connus dans

la régulation de la demi-vie du VWF[137], mais à rapprocher probablement aussi aux glycanes ABO.

Salder *et al*.[140] différencient les VWD de type 1 et les taux bas. Mais le diagnostic différentiel entre les deux groupes est parfois difficile. Il existe un continuum des taux de VWF:Ag entre la VWD de type 1 et les taux bas de VWF, rendant le diagnostic de VWD de type 1 pas toujours aisé. Les individus de groupe O sont surreprésentés chez les taux bas par rapport aux VWD de type 1 chez qui un variant délétère du gène *VWF* est plus souvent retrouvé. Ce qui signifie que le groupe O est un élément déterminant du taux de VWF entre 30 et 50 U/dL, alors que c'est plutôt un variant du gène *VWF* qui explique le VWD de type 1 quand le taux plasmatique de VWF est inférieur à 30 U/dL.

Actuellement, le génotypage de groupes sanguins (A, B, AB ou O), permettant de définir facilement les sous-groupes, n'est pas réalisé dans les laboratoires d'immunohématologie, car il n'apporte pas d'informations décisives pour la transfusion. La détermination génotypique de ces sous-groupes pourrait cependant être un nouvel outil permettant de mieux appréhender le risque thrombotique et hémorragique du patient. Le sous-groupe permettrait également de mieux comprendre la relation entre les variants moléculaires délétères et le phénotype biologique observé chez le patient atteint de VWD de type 1. Pour un sujet de groupe A, on ne fait pas la différence entre un sous-groupe A1 (A1O et A1A1) et A2 (A2O et A2A2). Or, il a été montré qu'il n'existe pas de différence significative des taux de VWF:Ag entre les individus A2O1 et O1O1[85,86]. L'existence de patients de groupe A2 et étiquetés initialement « A » démontre que certains groupes A2 présentent donc des niveaux de déterminants antigéniques ABO similaires à celui d'un groupe O, ce qui peut mieux expliquer un taux de VWF :Ag diminué. Cette différence entre A2O1 et O1O1 peut être intéressante à rechercher notamment chez les patients avec une VWD de type 1 chez qui aucun variant délétère n'a été retrouvé dans le gène *VWF*. Il n'existe pas d'études sur les sous-groupes ABO et la relation avec le risque hémorragique. Il serait intéressant d'étudier chez des patients présentant des taux bas de VWF et, qu'un variant ait été ou non identifié dans le gène *VWF*, l'influence des haplotypes *A* (patients *A1*, *A2, O1, O2)* sur le taux de VWF et le score hémorragique.

CONCLUSION

La glycosylation est un mécanisme post-traductionnel essentiel à une activité biologique optimale des protéines de l'organisme. Le groupe sanguin ABO influence de manière significative l'activité des protéines de l'hémostase, principalement de l'hémostase primaire au niveau plaquettaire et du VWF. Les glycanes des antigènes A, B et H sont présents sur le VWF et modifient considérablement sa synthèse et sa clairance. Ainsi le taux d'antigène VWF :Ag est 25 % plus bas chez les individus de groupe O par rapport à ceux de groupes non-O. Un quart des fluctuations sanguines des taux de VWF est expliqué par le *locus ABO* alors que le gène *VWF* lui-même ne représente que 5% de ces variations. L'augmentation importante des taux de VWF plasmatique, mais aussi du FVIII que le VWF protège d'une dégradation prématurée, est classiquement associée à un accroissement du risque thrombotique veineux et artériel. Ainsi les patients de groupes non-O ont un risque plus élevé d'accidents thrombotiques par rapport à ceux de groupe O. A l'opposé, une symptomatologie hémorragique plus fréquente est observée chez les patients O par rapport aux patients non-O.

Dans la VWD de type 1 correspondant à un déficit quantitatif en VWF, la fréquence du groupe O augmente de manière proportionnelle à celle du VWF :Ag alors que celle des variants délétères du gène *VWF* décroît. Le groupe O devient même très majoritaire dans la catégorie des « VWF bas » correspondant à une zone grise entre 30 et 50% de VWF :Ag mais n'étant plus *stricto* des VWD type 1. Les sous-groupes érythrocytaires A1 et A2 ainsi que O1 et O2 correspondent à des quantités de déterminants ABH différentes à la surface du globule rouge. Ces sous-groupes sont aussi associés à un risque thrombotique veineux différent, ce risque étant plus faible chez les A2 que chez les A1 et plus faible chez les O2 que chez les O1. Bien que sans incidence en médecine transfusionnelle, leur détermination en biologie moléculaire pourrait être aussi un outil intéressant pour l'interprétation des taux de VWF bas chez les patients atteints de VWD de type 1.

Les hématies A2 présentent moins de glycane A que les A1 avec en parallèle des niveaux de VWF et FVIII également plus bas dans A2 que A1, ce qui assimile les patients de diplotype *A2O1* initialement étiquetés « groupe A » plutôt à un « groupe O ». Ce qui pourrait être un argument explicatif majeur de l'existence d'une VWD de type 1 chez les patients sans variant délétère détecté dans leur gène *VWF*. De la même manière, les hématies O2 présentent moins de substance H que les O1, avec des niveaux de FVIII et VWF également plus bas que O1, ce qui pourrait aussi être intéressant à rechercher dans l'interprétation des VWD type 1 sans variant du *VWF* détecté.

La prise en compte du groupe sanguin ABO est un argument majeur dans l'interprétation des taux de VWF d'un patient. La détermination des sous-groupes *A1, A2, O1* et *O2*, notamment par biologie moléculaire, apparaît également comme un outil supplémentaire utile à cette interprétation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Watkins WM. Biochemistry and Genetics of the ABO, Lewis, and P Blood Group Systems. In: Harris H, Hirschhorn K, éditeurs. Advances in Human Genetics. Boston, MA: Springer US; 1980.

2. Stowell CP, Stowell SR. Biologic roles of the ABH and Lewis histo-blood group antigens Part I: infection and immunity. Vox Sang. juill 2019;114(5):426-42.

3. Lichtman MA, Spivak JL, Boxer LA, Shattil SJ, Henderson ES, éditeurs. On the agglutination of normal human blood. In: Hematology [Internet]. San Diego: Academic Press; 2000. p. 769-75. Disponible sur: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124485105501655

4. Lefrère J-J, Berche P. Karl Landsteiner découvre les groupes sanguins. Transfus Clin Biol. 1 févr 2010;17(1):1-8.

5. Gayon J. From Mendel to epigenetics: History of genetics. C R Biol. août 2016;339(7-8):225-30.

6. ISBT Guidelines Naming Blood Group Alleles, Daniels, et al., Vox Sang. ISBT/IBGRL, Transfusion 2000;40:477. Website http://ibgrl.blood.co.uk/ dbRBC http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gv/mhc/xslcgi.cgi?cmd=bgmut/home Garratty,.

7. Les groupes sanguins érythrocytaires [Internet]. Disponible sur: https://docplayer.fr/50593909-Les-groupes-sanguins-erythrocytaires.html

8. Yamamoto F, Clausen H, White T, Marken J, Hakomori S. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. Nature. 17 mai 1990;345(6272):229-33.

9. Seltsam A, Hallensleben M, Kollmann A, Blasczyk R. The nature of diversity and diversification at the ABO locus. Blood. 15 oct 2003;102(8):3035-42.

10. Goodeve AC, Reitsma PH, Mcvey JH. Nomenclature of genetic variants in hemostasis. J Thromb Haemost. 2011;9(4):852-5.

11. Goumidi L, Thibord F, Wiggins KL, Li-Gao R, Brown MR, van Hylckama Vlieg A, et al. Association of ABO haplotypes with the risk of venous thrombosis: impact on disease risks estimation. Blood.

12. Lee-Sundlov MM, Stowell SR, Hoffmeister KM. Multifaceted role of glycosylation in transfusion medicine, platelets, and red blood cells. J Thromb Haemost. 2020;18(7):1535-47.

13. Bioforma 26 Immuno hématologie et groupes sanguins [Internet]. [cité 8 déc 2020]. Disponible sur: https://sjbm.fr/images/cahiers/2002-Bioforma-26-Immuno-h%C3%A9matologie%20et%20groupes%20sanguins.pdf

14. Viitala J, Finne J, Krusius T. Blood Group A and H Determinants in Polyglycosyl Peptides of A1 and A2 Erythrocytes. Eur J Biochem. 1982;126(2):401-6.

15. Franchini M, Bonfanti C. Evolutionary aspects of ABO blood group in humans. Clin Chim Acta. 15 avr 2015;444:66-71.

16. Hakomori S. Antigen structure and genetic basis of histo-blood groups A, B and O: their changes associated with human cancer. Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj. 17 déc 1999;1473(1):247-66.

17. Sadler JE. Biochemistry and Genetics of Von Willebrand Factor. Annu Rev Biochem. 1998;67(1):395-424.

18. Lenting PJ, Christophe OD, Denis CV. von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends. Blood. 26 mars 2015;125(13):2019-28.

19. Baronciani L, Goodeve A, Peyvandi F. Molecular diagnosis of von Willebrand disease. Haemophilia. 2017;23(2):188-97.

20. Jackson SP. The growing complexity of platelet aggregation. Blood. 15 juin 2007;109(12):5087-95.

21. Springer TA. Biology and physics of von Willebrand factor concatamers. J Thromb Haemost JTH. juill 2011;9 Suppl 1:130-43.

22. Lenting PJ, Casari C, Christophe OD, Denis CV. von Willebrand factor: the old, the new and the unknown. J Thromb Haemost JTH. déc 2012;10(12):2428-37.

23. Foster PA, Fulcher CA, Marti T, Titani K, Zimmerman TS. A major factor VIII binding domain resides within the amino-terminal 272 amino acid residues of von Willebrand factor. J Biol Chem. 25 juin 1987;262(18):8443-6.

24. Takahashi Y, Kalafatis M, Girma JP, Sewerin K, Andersson LO, Meyer D. Localization of a factor VIII binding domain on a 34 kilodalton fragment of the N-terminal portion of von Willebrand factor. Blood. nov 1987;70(5):1679-82.

25. Koedam JA, Meijers JC, Sixma JJ, Bouma BN. Inactivation of human factor VIII by activated protein C. Cofactor activity of protein S and protective effect of von Willebrand factor. J Clin Invest. oct 1988;82(4):1236-43.

26. Nurden P, Debili N, Vainchenker W, Bobe R, Bredoux R, Corvazier E, et al. Impaired megakaryocytopoiesis in type 2B von Willebrand disease with severe thrombocytopenia. Blood. 15 oct 2006;108(8):2587-95.

27. Poirault-Chassac S, Nguyen KA, Pietrzyk A, Casari C, Veyradier A, Denis CV, et al. Terminal platelet production is regulated by von Willebrand factor. PloS One. 2013;8(5):e63810.

28. Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Choi H, Moake JL, Dong JF. Platelets adhered to endothelial cell-bound ultra-large von Willebrand factor strings support leukocyte tethering and rolling under high shear stress. J Thromb Haemost JTH. mars 2005;3(3):562-70.

29. Petri B, Broermann A, Li H, Khandoga AG, Zarbock A, Krombach F, et al. von Willebrand factor promotes leukocyte extravasation. Blood. 25 nov 2010;116(22):4712-9.

30. Starke RD, Ferraro F, Paschalaki KE, Dryden NH, McKinnon TAJ, Sutton RE, et al. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. Blood. 20 janv 2011;117(3):1071-80.

31. Randi AM, Laffan MA, Starke RD. Von Willebrand factor, angiodysplasia and angiogenesis. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2 sept 2013;5(1):e2013060.

32. Mochizuki S, Soejima K, Shimoda M, Abe H, Sasaki A, Okano HJ, et al. Effect of ADAM28 on carcinoma cell metastasis by cleavage of von Willebrand factor. J Natl Cancer Inst. 20 juin 2012;104(12):906-22.

33. Pannekoek H, Voorberg J. Molecular cloning, expression and assembly of multimeric von Willebrand factor. Baillieres Clin Haematol. oct 1989;2(4):879-96.

34. Rauch A, Wohner N, Christophe OD, Denis CV, Susen S, Lenting PJ. On the Versatility of von Willebrand Factor. Mediterr J Hematol Infect Dis. 10 juill 2013;5(1).

35. Zhou Y-F, Eng ET, Zhu J, Lu C, Walz T, Springer TA. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor. Blood. 12 juill 2012;120(2):449-58.

36. Titani K, Kumar S, Takio K, Ericsson LH, Wade RD, Ashida K, et al. Amino acid sequence of human von Willebrand factor. Biochemistry. 3 juin 1986;25(11):3171-84.

37. Marti T, Rösselet SJ, Titani K, Walsh KA. Identification of disulfide-bridged substructures within human von Willebrand factor. Biochemistry. 15 déc 1987;26(25):8099-109.

38. Ward SE, O'Sullivan JM, O'Donnell JS. The relationship between ABO blood group, von Willebrand factor, and primary hemostasis. Blood. 17 déc 2020;136(25):2864-74.

39. Canis K, McKinnon TAJ, Nowak A, Haslam SM, Panico M, Morris HR, et al. Mapping the N-glycome of human von Willebrand factor. Biochem J. 15 oct 2012;447(2):217-28.

40. Canis K, McKinnon T a. J, Nowak A, Panico M, Morris HR, Laffan M, et al. The plasma von Willebrand factor O-glycome comprises a surprising variety of structures including ABH antigens and disialosyl motifs. J Thromb Haemost JTH. janv 2010;8(1):137-45.

41. Solecka BA, Weise C, Laffan MA, Kannicht C. Site-specific analysis of von Willebrand factor O-glycosylation. J Thromb Haemost JTH. avr 2016;14(4):733-46.

42. McGrath RT, van den Biggelaar M, Byrne B, O'Sullivan JM, Rawley O, O'Kennedy R, et al. Altered glycosylation of platelet-derived von Willebrand factor confers resistance to ADAMTS13 proteolysis. Blood. 12 déc 2013;122(25):4107-10.

43. Grewal PK, Uchiyama S, Ditto D, Varki N, Le DT, Nizet V, et al. The Ashwell receptor mitigates the lethal coagulopathy of sepsis. Nat Med. juin 2008;14(6):648-55.

44. Millar CM, Riddell AF, Brown SA, Starke R, Mackie I, Bowen DJ, et al. Survival of von Willebrand factor released following DDAVP in a type 1 von Willebrand disease cohort: influence of glycosylation, proteolysis and gene mutations. Thromb Haemost. mai 2008;99(5):916-24.

45. Ellies LG, Ditto D, Levy GG, Wahrenbrock M, Ginsburg D, Varki A, et al. Sialyltransferase ST3Gal-IV operates as a dominant modifier of hemostasis by concealing asialoglycoprotein receptor ligands. Proc Natl Acad Sci U S A. 23 juill 2002;99(15):10042-7.

46. Song J, Xue C, Preisser JS, Cramer DW, Houck KL, Liu G, et al. Association of Single Nucleotide Polymorphisms in the ST3GAL4 Gene with VWF Antigen and Factor VIII Activity. PloS One. 2016;11(9):e0160757.

47. Torisu T, Torisu K, Lee IH, Liu J, Malide D, Combs CA, et al. Autophagy regulates endothelial cell processing, maturation and secretion of von Willebrand factor. Nat Med. oct 2013;19(10):1281-7.

48. Rydz N, Swystun LL, Notley C, Paterson AD, Riches JJ, Sponagle K, et al. The C-type lectin receptor CLEC4M binds, internalizes, and clears von Willebrand factor and contributes to the variation in plasma von Willebrand factor levels. Blood. 27 juin 2013;121(26):5228-37.

49. Swystun LL, Lai JD, Notley C, Georgescu I, Paine AS, Mewburn J, et al. The endothelial cell receptor stabilin-2 regulates VWF-FVIII complex half-life and immunogenicity. J Clin Invest. 31 août 2018;128(9):4057-73.

50. Chion A, O'Sullivan JM, Drakeford C, Bergsson G, Dalton N, Aguila S, et al. N-linked glycans within the A2 domain of von Willebrand factor modulate macrophage-mediated clearance. Blood. 13 oct 2016;128(15):1959-68.

51. Rastegarlari G, Pegon JN, Casari C, Odouard S, Navarrete A-M, Saint-Lu N, et al. Macrophage LRP1 contributes to the clearance of von Willebrand factor. Blood. 1 mars 2012;119(9):2126-34.

52. O'Sullivan JM, Ward S, Lavin M, O'Donnell JS. von Willebrand factor clearance - biological mechanisms and clinical significance. Br J Haematol. oct 2018;183(2):185-95.

53. Ward SE, O'Sullivan JM, Drakeford C, Aguila S, Jondle CN, Sharma J, et al. A novel role for the macrophage galactose-type lectin receptor in mediating von Willebrand factor clearance. Blood. 22 févr 2018;131(8):911-6.

54. Jenkins PV, Rawley O, Smith OP, O'Donnell JS. Elevated factor VIII levels and risk of venous thrombosis. Br J Haematol. juin 2012;157(6):653-63.

55. Miller CH, Dilley A, Richardson L, Hooper WC, Evatt BL. Population differences in von Willebrand factor levels affect the diagnosis of von Willebrand disease in African-American women. Am J Hematol. juin 2001;67(2):125-9.

56. Pottinger BE, Read RC, Paleolog EM, Higgins PG, Pearson JD. von Willebrand factor is an acute phase reactant in man. Thromb Res. 15 févr 1989;53(4):387-94.

57. Kremer Hovinga JA, Zeerleder S, Kessler P, Romani de Wit T, van Mourik JA, Hack CE, et al. ADAMTS-13, von Willebrand factor and related parameters in severe sepsis and septic shock. J Thromb Haemost JTH. nov 2007;5(11):2284-90.

58. Guagnano MT, Romano M, Falco A, Nutini M, Marinopiccoli M, Manigrasso MR, et al. Leptin increase is associated with markers of the hemostatic system in obese healthy women. J Thromb Haemost JTH. nov 2003;1(11):2330-4.

59. Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Moake JF, Dong J. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. Blood. 1 juill 2004;104(1):100-6.

60. Patel KN, Soubra SH, Bellera RV, Dong J-F, McMullen CA, Burns AR, et al. Differential role of von Willebrand factor and P-selectin on microvascular thrombosis in endotoxemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol. déc 2008;28(12):2225-30.

61. Michels A, Albánez S, Mewburn J, Nesbitt K, Gould TJ, Liaw PC, et al. Histones link inflammation and thrombosis through the induction of Weibel-Palade body exocytosis. J Thromb Haemost JTH. nov 2016;14(11):2274-86.

62. Kouides PA. Aspects of the laboratory identification of von Willebrand disease in women. Semin Thromb Hemost. juill 2006;32(5):480-4.

63. Castaman G. Changes of von Willebrand Factor during Pregnancy in Women with and without von Willebrand Disease. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2013;5(1):e2013052.

64. Ribeiro J, Almeida-Dias A, Ascensão A, Magalhães J, Oliveira AR, Carlson J, et al. Hemostatic response to acute physical exercise in healthy adolescents. J Sci Med Sport. juin 2007;10(3):164-9.

65. Timm A, Fahrenkrug J, Jørgensen HL, Sennels HP, Goetze JP. Diurnal variation of von Willebrand factor in plasma: the Bispebjerg study of diurnal variations. Eur J Haematol. juill 2014;93(1):48-53.

66. Al-Awadhi AM, AlFadhli SM, Mustafa NY, Sharma PN. Effects of cigarette smoking on hematological parameters and von Willebrand factor functional activity levels in asymptomatic male and female Arab smokers. Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent. 2008;17(2):149-53.

67. Yuan Z, Chen Y, Zhang Y, Liu H, Liu Q, Zhao J, et al. Changes of plasma vWF level in response to the improvement of air quality: an observation of 114 healthy young adults. Ann Hematol. avr 2013;92(4):543-8.

68. Wang QY, Song J, Gibbs RA, Boerwinkle E, Dong JF, Yu FL. Characterizing polymorphisms and allelic diversity of von Willebrand factor gene in the 1000 Genomes. J Thromb Haemost JTH. févr 2013;11(2):261-9.

69. Bellissimo DB, Christopherson PA, Flood VH, Gill JC, Friedman KD, Haberichter SL, et al. VWF mutations and new sequence variations identified in healthy controls are more frequent in the African-American population. Blood. 1 mars 2012;119(9):2135-40.

70. Johnsen JM, Auer PL, Morrison AC, Jiao S, Wei P, Haessler J, et al. Common and rare von Willebrand factor (VWF) coding variants, VWF levels, and factor VIII levels in African Americans: the NHLBI Exome Sequencing Project. Blood. 25 juill 2013;122(4):590-7.

71. Keightley AM, Lam YM, Brady JN, Cameron CL, Lillicrap D. Variation at the von Willebrand factor (vWF) gene locus is associated with plasma vWF:Ag levels: identification of three novel single nucleotide polymorphisms in the vWF gene promoter. Blood. 15 juin 1999;93(12):4277-83.

72. Petersen R, Lambourne JJ, Javierre BM, Grassi L, Kreuzhuber R, Ruklisa D, et al. Platelet function is modified by common sequence variation in megakaryocyte super enhancers. Nat Commun. 13 juill 2017;8:16058.

73. Desch KC, Ozel AB, Siemieniak D, Kalish Y, Shavit JA, Thornburg CD, et al. Linkage analysis identifies a locus for plasma von Willebrand factor undetected by genome-wide association. Proc Natl Acad Sci U S A. 8 janv 2013;110(2):588-93.

74. van der Meer IM, Brouwers G-J, Bulk S, Leebeek FWG, van der Kuip DAM, Hofman A, et al. Genetic variability of von Willebrand factor and risk of coronary heart disease: the Rotterdam Study. Br J Haematol. févr 2004;124(3):343-7.

75. van Schie MC, de Maat MPM, Isaacs A, van Duijn CM, Deckers JW, Dippel DWJ, et al. Variation in the von Willebrand factor gene is associated with von Willebrand factor levels and with the risk for cardiovascular disease. Blood. 27 janv 2011;117(4):1393-9.

76. Smith NL, Chen M-H, Dehghan A, Strachan DP, Basu S, Soranzo N, et al. Novel associations of multiple genetic loci with plasma levels of factor VII, factor VIII, and von Willebrand factor: The CHARGE (Cohorts for Heart and Aging Research in Genome Epidemiology) Consortium. Circulation. 30 mars 2010;121(12):1382-92.

77. Smith NL, Rice KM, Bovill EG, Cushman M, Bis JC, McKnight B, et al. Genetic variation associated with plasma von Willebrand factor levels and the risk of incident venous thrombosis. Blood. 2 juin 2011;117(22):6007-11.

78. Mufti AH, Ogiwara K, Swystun LL, Eikenboom JCJ, Budde U, Hopman WM, et al. The common VWF single nucleotide variants c.2365A>G and c.2385T>C modify VWF biosynthesis and clearance. Blood Adv. 10 juill 2018;2(13):1585-94.

79. Ozel AB, McGee B, Siemieniak D, Jacobi PM, Haberichter SL, Brody LC, et al. Genome-wide studies of von Willebrand factor propeptide identify loci contributing to variation in propeptide levels and von Willebrand factor clearance. J Thromb Haemost JTH. sept 2016;14(9):1888-98.

80. Souto JC, Almasy L, Soria JM, Buil A, Stone W, Lathrop M, et al. Genome-wide linkage analysis of von Willebrand factor plasma levels: results from the GAIT project. Thromb Haemost. mars 2003;89(3):468-74.

81. Sabater-Lleal M, Huffman JE, de Vries PS, Marten J, Mastrangelo MA, Song C, et al. Genome-Wide Association Transethnic Meta-Analyses Identifies Novel Associations Regulating Coagulation Factor VIII and von Willebrand Factor Plasma Levels. Circulation. 29 janv 2019;139(5):620-35.

82. O'Donnell JS, McKinnon TAJ, Crawley JTB, Lane DA, Laffan MA. Bombay phenotype is associated with reduced plasma-VWF levels and an increased susceptibility to ADAMTS13 proteolysis. Blood. 15 sept 2005;106(6):1988-91.

83. O'Donnell J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA. Genotype at the secretor blood group locus is a determinant of plasma von Willebrand factor level. Br J Haematol. févr 2002;116(2):350-6.

84. Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ, Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. Blood. juin 1987;69(6):1691-5.

85. Sousa NC, Anicchino-Bizzacchi JM, Locatelli MF, Castro V, Barjas-Castro ML. The relationship between ABO groups and subgroups, factor VIII and von Willebrand factor. Haematologica. févr 2007;92(2):236-9.

86. O'Donnell J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA. Amount of H antigen expressed on circulating von Willebrand factor is modified by ABO blood group genotype and is a major determinant of plasma von Willebrand factor antigen levels.

87. Ward S, O'Sullivan JM, O'Donnell JS. von Willebrand factor sialylation—A critical regulator of biological function. J Thromb Haemost. 2019;17(7):1018-29.

88. Rao ES, Ng CJ. Current approaches to diagnostic testing in von Willebrand Disease. Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis. août 2018;57(4):463-5.

89. Kitchen S, Jennings I, Woods TAL, Kitchen DP, Walker ID, Preston FE. Laboratory tests for measurement of von Willebrand factor show poor agreement among different centers: results from the United Kingdom National External Quality Assessment Scheme for Blood Coagulation. Semin Thromb Hemost. juill 2006;32(5):492-8.

90. Preston RJS, Rawley O, Gleeson EM, O'Donnell JS. Elucidating the role of carbohydrate determinants in regulating hemostasis: insights and opportunities. Blood. 9 mai 2013;121(19):3801-10.

91. Sarode R, Goldstein J, Sussman II, Nagel RL, Tsai H-M. Role of A and B blood group antigens in the expression of adhesive activity of von Willebrand factor. Br J Haematol. 2000;109(4):857-64.

92. Miller CH, Haff E, Platt SJ, Rawlins P, Drews CD, Dilley AB, et al. Measurement of von Willebrand factor activity: relative effects of ABO blood type and race. J Thromb Haemost JTH. oct 2003;1(10):2191-7.

93. Haley E, Babar N, Ritter C, Downes KA, Green D, Shurin S, et al. Effect of ABO blood group on the collagen-binding assay for von Willebrand factor. Am J Hematol. nov 2002;71(3):229-31.

94. Chng WJ, Yip CYC, Baliwag MB, Liu T-C. Differential effect of the ABO blood group on von Willebrand factor collagen binding activity and ristocetin cofactor assay. Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb. janv 2005;16(1):75-8.

95. Flood VH, Gill JC, Morateck PA, Christopherson PA, Friedman KD, Haberichter SL, et al. Common VWF exon 28 polymorphisms in African Americans affecting the VWF activity assay by ristocetin cofactor. Blood. 15 juill 2010;116(2):280-6.

96. Flood VH, Gill JC, Morateck PA, Christopherson PA, Friedman KD, Haberichter SL, et al. Gain-of-function GPIb ELISA assay for VWF activity in the Zimmerman Program for the Molecular and Clinical Biology of VWD. Blood. 10 févr 2011;117(6):e67-74.

97. Zheng XL. ADAMTS13 and von Willebrand factor in thrombotic thrombocytopenic purpura. Annu Rev Med. 2015;66:211-25.

98. Sadler JE. Von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 1 juill 2008;112(1):11-8.

99. Nichols WL, Hultin MB, James AH, Manco-Johnson MJ, Montgomery RR, Ortel TL, et al. von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA)1. Haemophilia. 2008;14(2):171-232.

100. Laffan MA, Lester W, O'Donnell JS, Will A, Tait RC, Goodeve A, et al. The diagnosis and management of von Willebrand disease: a United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organization guideline approved by the British Committee for Standards in Haematology. Br J Haematol. nov 2014;167(4):453-65.

101. Bowen DJ. An influence of ABO blood group on the rate of proteolysis of von Willebrand factor by ADAMTS13. J Thromb Haemost JTH. janv 2003;1(1):33-40.

102. McGrath RT, McKinnon TAJ, Byrne B, O'Kennedy R, Laffan M, McRae E, et al. Terminal α2-6 Linked Sialic Acid Expression On VWF Specifically Enhances Proteolysis by ADAMTS13. Blood. 20 nov 2009;114(22):30-30.

103. Lynch CJ, Lane DA. N-linked glycan stabilization of the VWF A2 domain. Blood. 31 mars 2016;127(13):1711-8.

104. Lenting PJ, Westein E, Terraube V, Ribba A-S, Huizinga EG, Meyer D, et al. An experimental model to study the in vivo survival of von Willebrand factor. Basic aspects and application to the R1205H mutation. J Biol Chem. 26 mars 2004;279(13):12102-9.

105. van Schooten CJ, Shahbazi S, Groot E, Oortwijn BD, van den Berg HM, Denis CV, et al. Macrophages contribute to the cellular uptake of von Willebrand factor and factor VIII in vivo. Blood. 1 sept 2008;112(5):1704-12.

106. Castro-Núñez L, Dienava-Verdoold I, Herczenik E, Mertens K, Meijer AB. Shear stress is required for the endocytic uptake of the factor VIII-von Willebrand factor complex by macrophages. J Thromb Haemost JTH. sept 2012;10(9):1929-37.

107. Rawley O, O'Sullivan JM, Chion A, Keyes S, Lavin M, van Rooijen N, et al. von Willebrand factor arginine 1205 substitution results in accelerated macrophage-dependent clearance in vivo. J Thromb Haemost JTH. mai 2015;13(5):821-6.

108. Badirou I, Kurdi M, Rayes J, Legendre P, Christophe OD, Lenting PJ, et al. von Willebrand factor clearance does not involve proteolysis by ADAMTS-13. J Thromb Haemost JTH. oct 2010;8(10):2338-40.

109. Gallinaro L, Cattini MG, Sztukowska M, Padrini R, Sartorello F, Pontara E, et al. A shorter von Willebrand factor survival in O blood group subjects explains how ABO determinants influence plasma von Willebrand factor. Blood. 1 avr 2008;111(7):3540-5.

110. Haberichter SL, Balistreri M, Christopherson P, Morateck P, Gavazova S, Bellissimo DB, et al. Assay of the von Willebrand factor (VWF) propeptide to identify patients with type 1 von Willebrand disease with decreased VWF survival. Blood. 15 nov 2006;108(10):3344-51.

111. Fischer K, Pendu R, van Schooten CJ, van Dijk K, Denis CV, van den Berg HM, et al. Models for prediction of factor VIII half-life in severe haemophiliacs: distinct approaches for blood group O and non-O patients. PloS One. 25 août 2009;4(8):e6745.

112. Larkin JMG, Porter CD. Mice are unsuitable for modelling ABO discordance despite strain-specific A cross-reactive natural IgM. Br J Haematol. juill 2005;130(2):310-7.

113. Groeneveld DJ, van Bekkum T, Cheung KL, Dirven RJ, Castaman G, Reitsma PH, et al. No evidence for a direct effect of von Willebrand factor's ABH blood group antigens on von Willebrand factor clearance. J Thromb Haemost JTH. avr 2015;13(4):592-600.

114. Zhong M, Zhang H, Reilly JP, Chrisitie JD, Ishihara M, Kumagai T, et al. ABO Blood Group as a Model for Platelet Glycan Modification in Arterial Thrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. juill 2015;35(7):1570-8.

115. McGrath RT, McRae E, Smith OP, O'Donnell JS. Platelet von Willebrand factor--structure, function and biological importance. Br J Haematol. mars 2010;148(6):834-43.

116. Santoso S, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. Blood group A and B determinants are expressed on platelet glycoproteins IIa, IIIa, and Ib. Thromb Haemost. 12 févr 1991;65(2):196-201.

117. Stockelberg D, Hou M, Rydberg L, Kutti J, Wadenvik H. Evidence for an expression of blood group A antigen on platelet glycoproteins IV and V. Transfus Med Oxf Engl. sept 1996;6(3):243-8.

118. Leebeek FWG, Eikenboom JCJ. Von Willebrand's Disease. N Engl J Med. 24 nov 2016;375(21):2067-80.

119. Pujol-Moix N, Martinez-Perez A, Sabater-Lleal M, Llobet D, Vilalta N, Hamsten A, et al. Influence of ABO Locus on PFA-100 Collagen-ADP Closure Time Is Not Totally Dependent on the Von Willebrand Factor. Results of a GWAS on GAIT-2 Project Phenotypes. Int J Mol Sci. 30 juin 2019;20(13).

120. Favaloro EJ. Clinical utility of closure times using the platelet function analyzer-100/200. Am J Hematol. avr 2017;92(4):398-404.

121. Dunne E, Qi QM, Shaqfeh ES, O'Sullivan JM, Schoen I, Ricco AJ, et al. Blood group alters platelet binding kinetics to von Willebrand factor and consequently platelet function. Blood. 21 mars 2019;133(12):1371-7.

122. Lavin M, Aguila S, Dalton N, Nolan M, Byrne M, Ryan K, et al. Significant gynecological bleeding in women with low von Willebrand factor levels. Blood Adv. 24 juill 2018;2(14):1784-91.

123. Curtis BR, Edwards JT, Hessner MJ, Klein JP, Aster RH. Blood group A and B antigens are strongly expressed on platelets of some individuals. Blood. 15 août 2000;96(4):1574-81.

124. Cooling LLW, Kelly K, Barton J, Hwang D, Koerner TAW, Olson JD. Determinants of ABH expression on human blood platelets. Blood. 15 avr 2005;105(8):3356-64.

125. Swystun LL, Lillicrap D. Genetic regulation of plasma von Willebrand factor levels in health and disease. J Thromb Haemost JTH. déc 2018;16(12):2375-90.

126. OHIRA T, Cushman M, Tsai MY, ZHANG Y, Heckbert SR, ZAKAI N. ABO blood group, other risk factors and incidence of venous thromboembolism: the Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE). Journal of Thrombosis and Haemostasis - Wiley Online Library. 2007;

127. Goodeve A, Eikenboom J, Castaman G, Rodeghiero F, Federici AB, Batlle J, et al. Phenotype and genotype of a cohort of families historically diagnosed with type 1 von Willebrand disease in the European study, Molecular and Clinical Markers for the Diagnosis and Management of Type 1 von Willebrand Disease (MCMDM-1VWD). Blood. 1 janv 2007;109(1):112-21.

128. Yadegari H, Driesen J, Pavlova A, Biswas A, Hertfelder H-J, Oldenburg J. Mutation distribution in the von Willebrand factor gene related to the different von Willebrand disease (VWD) types in a cohort of VWD patients. Thromb Haemost. oct 2012;108(4):662-71.

129. Cumming A, Grundy P, Keeney S, Lester W, Enayat S, Guilliatt A, et al. An investigation of the von Willebrand factor genotype in UK patients diagnosed to have type 1 von Willebrand disease. Thromb Haemost. nov 2006;96(5):630-41.

130. Casonato A, Cattini MG, Barbon G, Daidone V, Pontara E. Severe, recessive type 1 is a discrete form of von Willebrand disease: the lesson learned from the c.1534-3C>A von Willebrand factor mutation. Thromb Res. sept 2015;136(3):682-6.

131. Eikenboom J, Hilbert L, Ribba AS, Hommais A, Habart D, Messenger S, et al. Expression of 14 von Willebrand factor mutations identified in patients with type 1 von Willebrand disease from the MCMDM-1VWD study. J Thromb Haemost JTH. août 2009;7(8):1304-12.

132. Wang J-W, Bouwens EAM, Pintao MC, Voorberg J, Safdar H, Valentijn KM, et al. Analysis of the storage and secretion of von Willebrand factor in blood outgrowth endothelial cells derived from patients with von Willebrand disease. Blood. 4 avr 2013;121(14):2762-72.

133. Starke RD, Paschalaki KE, Dyer CEF, Harrison-Lavoie KJ, Cutler JA, McKinnon TAJ, et al. Cellular and molecular basis of von Willebrand disease: studies on blood outgrowth endothelial cells. Blood. 4 avr 2013;121(14):2773-84.

134. Othman M, Chirinian Y, Brown C, Notley C, Hickson N, Hampshire D, et al. Functional characterization of a 13-bp deletion (c.-1522_-1510del13) in the promoter of the von Willebrand factor gene in type 1 von Willebrand disease. Blood. 4 nov 2010;116(18):3645-52.

135. Haberichter SL, Castaman G, Budde U, Peake I, Goodeve A, Rodeghiero F, et al. Identification of type 1 von Willebrand disease patients with reduced von Willebrand factor survival by assay of the VWF propeptide in the European study: molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 VWD (MCMDM-1VWD). Blood. 15 mai 2008;111(10):4979-85.

136. Castaman G, Eikenboom JCJ. ABO blood group also influences the von Willebrand factor (VWF) antigen level in heterozygous carriers of VWF null alleles, type 2N mutation Arg854GIn, and the missense mutation Cys2362Phe. Blood. 1 sept 2002;100(5):1927-8.

137. Castaman G, Tosetto A, Eikenboom JC, Rodeghiero F. Blood group significantly influences von Willebrand factor increase and half-life after desmopressin in von Willebrand disease Vicenza. J Thromb Haemost JTH. sept 2010;8(9):2078-80.

138. Rydz N, Grabell J, Lillicrap D, James PD. Changes in von Willebrand factor level and von Willebrand activity with age in type 1 von Willebrand disease. Haemoph Off J World Fed Hemoph. sept 2015;21(5):636-41.

139. Sanders YV, Giezenaar MA, Laros-van Gorkom B a. P, Meijer K, van der Bom JG, Cnossen MH, et al. von Willebrand disease and aging: an evolving phenotype. J Thromb Haemost JTH. juill 2014;12(7):1066-75.

140. Sadler JE. Von Willebrand disease type 1: a diagnosis in search of a disease. Blood. 15 mars 2003;101(6):2089-93.

141. James PD, Connell NT, Ameer B, Di Paola J, Eikenboom J, Giraud N, et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. Blood Adv. 12 janv 2021;5(1):280-300.

142. Tosetto A, Rodeghiero F, Castaman G, Bernardi M, Bertoncello K, Goodeve A, et al. Impact of plasma von Willebrand factor levels in the diagnosis of type 1 von Willebrand disease: results from a multicenter European study (MCMDM-1VWD). J Thromb Haemost JTH. avr 2007;5(4):715-21.

143. James PD, Notley C, Hegadorn C, Leggo J, Tuttle A, Tinlin S, et al. The mutational spectrum of type 1 von Willebrand disease: Results from a Canadian cohort study. Blood. 1 janv 2007;109(1):145-54.

144. Montgomery RR, Flood VH. What have we learned from large population studies of von Willebrand disease? Hematol Am Soc Hematol Educ Program. 2 déc 2016;2016(1):670-7.

145. Lavin M, Aguila S, Schneppenheim S, Dalton N, Jones KL, O'Sullivan JM, et al. Novel insights into the clinical phenotype and pathophysiology underlying low VWF levels. Blood. 23 nov 2017;130(21):2344-53.

146. Bucciarelli P, Siboni SM, Stufano F, Biguzzi E, Canciani MT, Baronciani L, et al. Predictors of von Willebrand disease diagnosis in individuals with borderline von Willebrand factor plasma levels. J Thromb Haemost JTH. févr 2015;13(2):228-36.

147. Franchini M, Crestani S, Frattini F, Sissa C, Bonfanti C. ABO blood group and von Willebrand factor: biological implications. Clin Chem Lab Med. sept 2014;52(9):1273-6.

FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2020/2021

Nom : KITEL
Prénom : Caroline

Titre de la thèse : INFLUENCE DU GROUPE ABO ET DES GLYCOSYLTRANSFERASES DANS LES PATHOLOGIES DE L'HEMOSTASE DONT LA MALADIE DE WILLEBRAND

Mots-clés : Système sanguin ABO, facteur von Willebrand, pathologies de l'hémostase, glycosylation, glycosyltransférase, maladie de Willebrand

---

Résumé : Les groupes sanguins jouent un rôle important, en raison de la production importante d'anticorps, et peuvent être à l'origine d'accidents transfusionnels ou d'accidents d'allo-immunisation foeto-maternelle. Cependant, ils peuvent également être impliqués dans les maladies cardiovasculaires, dans les pathologies infectieuses ou encore dans les pathologies de l'hémostase comme les pathologies thrombotiques ou hémorragiques. Les taux de Willebrand plasmatiques sont en effet, fortement influencés par les facteurs environnementaux, hormonaux, ethniques, génétiques du *VWF* ou *non-VWF,* notamment par le système ABO. Un lien étroit existe entre la protéine du VWF et l'expression des antigènes et des glycosyltransférases sur les globules rouges. Le taux de VWF plasmatique est la résultante de la synthèse, la sécrétion, la protéolyse et la clairance du VWF. Les sujets de groupe O présentent des taux plasmatiques d'environ 25% inférieurs aux sujets de groupe non-O. Selon le génotype du groupe sanguin, les niveaux d'expression de N- et de O-glycanes peuvent être différents et peuvent moduler les taux plasmatiques de VWF, par des mécanismes de glycosylation, de protéolyse, de clairance du VWF. Le génotypage du groupe ABO serait intéressant afin de comprendre les taux de plasmatiques de VWF retrouvés chez certains patients pour lesquels aucune mutation du *VWF* n'a été retrouvée ou chez les patients dit « low Willebrand ».

<u>Membres du jury</u> :

Président : Madame le Professeur DUPONT Annabelle, PU-PH, CHU de LILLE

Assesseur(s) :
Madame le Professeur SUSEN Sophie, PU-PH, CHU de LILLE

Membre(s) extérieur(s) : Madame le Docteur JEANPIERRE Emmanuelle, PH, CHU de LILLE
Monsieur le Docteur ZAWADZKI Christophe, PH, CHU de LILLE