

Les glycoprotéines plaquettaires : vingt ans après

La thrombose est l'hémostase au mauvais endroit, titrait MacFarlane. La connaissance physiopathologique de deux anomalies constitutionnelles plaquettaires, la thrombasthénie décrite par E. Glanzmann en 1918 et la dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale par Jean Bernard et Jean-Pierre Soulier en 1948, a permis, dès les années 1960, de définir la thrombasthénie comme un trouble de l'agrégation des plaquettes entre elles et le syndrome de Bernard-Soulier comme un désordre de l'adhérence à des surfaces sous-endothéliales. Nos découvertes, en 1974, du désordre glycoprotéinique de la membrane des plaquettes thrombasthéniques, et en 1975, de celui affectant la membrane dans le syndrome de Bernard-Soulier, ont ouvert une nouvelle voie féconde dans la recherche de substances anti-thrombotiques, antiagrégantes ou antiadhérentes susceptibles d'être utilisées en thérapeutique dans la dernière décennie du XX^e siècle. C'est ce chemin parcouru durant ces vingt dernières années qui sera la trame de notre réflexion.

L'adhérence et l'agrégation plaquettaire constituent des phénomènes de reconnaissance cellulaire. Les plaquettes circulent à raison de $2-4 \times 10^5/\mu\text{l}$ avec une durée de vie d'environ sept jours. Ces cellules sans noyau sont produites en grandes quantités par des précurseurs, les mégacaryocytes, qui mûrissent dans la moelle osseuse. A l'état normal, les plaquettes circulent pour la plupart sous forme discoïde et non activée. Elles possèdent dans leur membrane une série de récepteurs, des glycoprotéines (GP), qui appartiennent aux grandes familles des glycoprotéines membranaires qui sont des

médiauteurs presque universels d'interactions cellule-cellule ou cellule-matrice extracellulaire en biologie [1-3]. Les cellules endothéliales forment une barrière non thrombogénique. Lorsque cette barrière est brisée (coupure d'un vaisseau, fissure d'une plaque d'athérosclérose), les plaquettes adhèrent aux protéines telles que le collagène, la fibronectine ou le facteur von Willebrand (vWF) exposées dans le sous-endothélium. S'étant fixées, les plaquettes deviennent activées et lient des protéines d'adhérence solubles telles que le fibrinogène ou encore le vWF, ces protéines formant des ponts entre les plaquettes adjacentes permettant ainsi la formation d'un agrégat ou thrombus. En parallèle, la translocation des phospholipides du feuillet interne vers la surface de la membrane déclenche une activité procoagulante et la formation accélérée de thrombine. Cette enzyme, ainsi que les substances solubles libérées par les plaquettes ou les cellules vasculaires endommagées telles que l'ADP, sont des promoteurs de l'activation plaquettaire autour du thrombus naissant. La thrombine transforme le fibrinogène en fibrine. Toutes ces étapes sont illustrées dans la *figure 1*.

GPIb et adhérence plaquettaire

La GPIb sert de récepteur plaquettaire au vWF sur les plaquettes non stimulées. Cette voie de l'adhérence plaquettaire est particulièrement importante quand les forces de cisaillement sont élevées, dans la microcirculation ou autour d'une sténose (perturbation de la paroi vasculaire souvent liée à une plaque d'athérosclérose et responsable, avec

ou sans thrombose associée, des troubles de la circulation dans des artères coronaires). Comme le montre la *figure 2*, la GPIb a une structure tout à fait intéressante. Elle est composée d'une large chaîne lourde (Ib α , 145 kDa) liée à une chaîne légère (Ib β , 22 kDa) par un pont disulfure [4, 5]. Elle forme dans la membrane avec GPIX (17kDa) un hétérodimère dont il y a environ 25 000 copies par plaquette. GPIb α , GPIb β et GP IX sont codées par des gènes différents. Des résultats préliminaires suggèrent que la GPV (82 kDa) est également associée au complexe (non illustré). La structure primaire de chaque composant est caractérisée par un nombre variable de séquences répétées de 24 acides aminés riches en leucine (les LRP, *leucine-rich repeats*) [4, 5]. Les sites fonctionnels de la GPIb α , une molécule très asymétrique, sont portés par la partie extracellulaire. Le fragment amino-terminal d'environ 45 kDa, peu glycosylé, où siègent sept séquences LRP, peut être clivé par des enzymes protéolytiques comme l'élastase. Cette région possède également un domaine comportant une double boucle dont la structure est dépendante de deux ponts disulfures et qui contient le site primaire de fixation du vWF et une deuxième séquence riche en acides aminés chargés négativement constituant un site de liaison de forte affinité pour la thrombine. Dans une position adjacente aux domaines fonctionnels se trouve une large région fortement glycosylée avec des propriétés structurales qui ressemblent à celles d'une mucine. Les sites actifs sont donc maintenus éloignés de la membrane. La GPIb α est capable de réagir immédiatement avec le vWF

quand celui-ci est lié à une surface (collagène, fibrine), mais pas avec des multimères de vWF solubles circulants. Cela montre que le mécanisme est réglé de manière fine.

Syndrome de Bernard-Soulier

Le syndrome de Bernard-Soulier nous a permis de rattacher l'adhérence plaquettaire à la GPIb [6]. Cette maladie hémorragique caractérisée par la présence de plaquettes géantes est très rare [7]. Une autre difficulté est qu'en raison de l'absence de noyaux dans les plaquettes, la biosynthèse des glycoprotéines plaquettaires a lieu dans les mégacaryocytes (dans la moelle osseuse), donc avant la libération des plaquettes dans la circulation sanguine. Néanmoins, la base moléculaire du déficit plaquettaire en GPIb a été établie pour plusieurs patients [5, 8]. Dans les cas typiques, les plaquettes expriment pas ou peu chaque composant du complexe. Il y a donc un déficit parallèle en GPIb α , Ib β , IX et V. A ce jour les anomalies génétiques décrites concernent, soit la GPIb α , soit la GPIX. L'explication du déficit multiple est que la formation du complexe dans l'appareil de Golgi et/ou dans le réticulum endoplasmique des mégacaryocytes est nécessaire pour que l'ensemble des sous-unités soit transporté au système membranaire destiné à devenir la membrane plaquettaire (appelé les membranes de démarcation). Un déficit d'un seul composant conduit donc à l'expression très réduite de chacune des sous-unités. Ces anomalies expliquent l'absence d'adhérence au vWF et l'absence d'agglutination de ces plaquettes par la ristocétine (ou la botrocétine) (tests biologiques simples évaluant la fixation des multimères solubles du vWF à la GPIb). Une agrégation résiduelle par la thrombine d'une intensité importante est expliquée par la présence d'un deuxième récepteur plaquettaire pour cette enzyme, le récepteur classique, qui comporte sept domaines transmembranaires [9]. La GPIb α est liée au cytosquelette sous-membranaire dans les plaquettes normales (figure 2). Cette liaison est

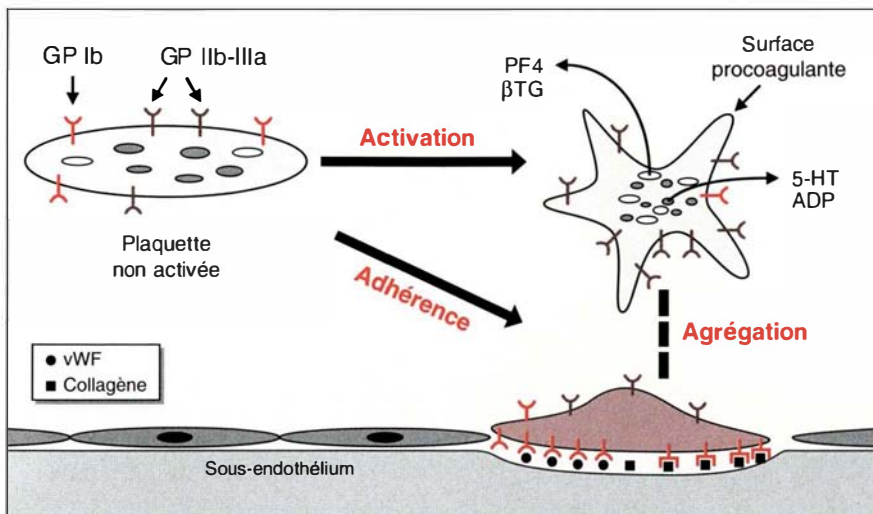


Figure 1. **Représentation schématique de l'interaction initiale des plaquettes avec le sous-endothélium.** Lors d'une brèche vasculaire, les protéines de la matrice extracellulaire du sous-endothélium sont exposées et servent de substrat à l'adhérence plaquettaire. Les plaquettes sanguines s'attachent grâce aux glycoprotéines (GP) dans leur membrane plasmique. La voie principale de l'adhérence concerne la GPIb qui se fixe sur le facteur von Willebrand (vWF) présent dans le sous-endothélium. D'autres voies d'adhérence concernent des récepteurs membranaires différents qui se fixent sur des protéines comme le collagène, également présentes dans le sous-endothélium. Une fois attachées, les plaquettes s'étalent et sécrètent leur contenu en granules denses (ADP, 5-hydroxytryptamine [5-HT] – une substance vasoactive) et en granules α (protéines d'origine mégacaryocytaire comme le facteur 4 plaquettaire [PF4] ou la β -thromboglobuline [β -TG], et un pool endogène de protéines d'adhérence comme le fibrinogène, captées préalablement à partir du plasma, ou le vWF). Soit l'adhérence, soit l'interaction entre les plaquettes et les agonistes solubles tels que l'ADP, activent les plaquettes induisant des changements conformationnels au niveau des complexes GPIIb-IIIa qui fixent alors des protéines d'adhérence plasmatiques (ou sécrétées), telles que le fibrinogène, pour assurer l'agrégation. Enfin, des mouvements de phospholipides anioniques au sein de la membrane plasmique rendent la surface procoagulante, permettant la formation rapide de thrombine, accélérant ainsi la transformation du fibrinogène en fibrine.

nécessaire pour que les plaquettes restent attachées au sous-endothélium dans le flux sanguin. La raison de la présence de plaquettes géantes dans ce syndrome n'a pas trouvé d'explication à ce jour. Une hypothèse à l'étude est que des anomalies au niveau des complexes GPIb-IX (ou de leur interaction avec le cytosquelette) pourraient avoir des conséquences sur la répartition des membranes à l'intérieur des mégacaryocytes au moment de la production plaquettaire. Une autre hypo-

thèse pourrait concerner la dernière étape de la mégacaryocytogenèse, faisant intervenir les facteurs de coagulation [10]. Une voie de recherche féconde concerne l'inhibition de la voie GPIb/IX/vWf pour pallier la thrombogénèse sans affecter l'hémostase [7, 11]. Enfin, il faut bien distinguer le syndrome de Bernard-Soulier, avec des anomalies de la GPIb, du syndrome de von Willebrand, maladie hémorragique liée aux anomalies moléculaires du vWF [12].

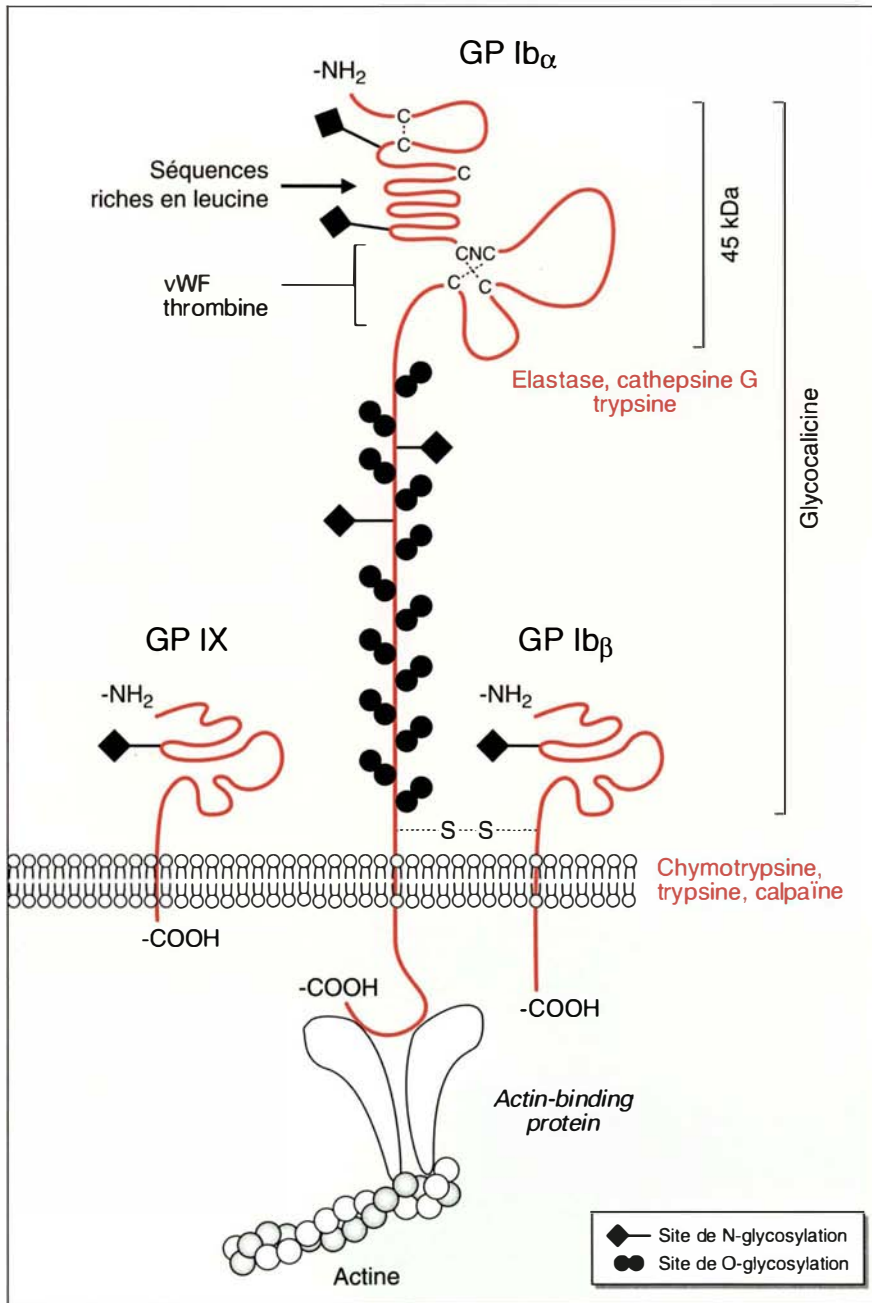


Figure 2. **Représentation schématique du complexe GPIb-IX, principal récepteur de l'adhérence plaquettaire.** Liée au cytosquelette sous-membranaire grâce à son interaction avec l'actin-binding protein, c'est la sous-unité Iba qui porte les sites actifs. Cette sous-unité est très fortement glycosylée, 50% environ de sa masse est constituée de motifs glucidiques. La partie NH₂-terminale contient un site principal d'interaction avec le vWF dans un domaine caractérisé par la présence d'une double boucle dont la structure est déterminée par deux ponts disulfures. Un deuxième site très proche mais différent fixe la thrombine avec une forte affinité. Une caractéristique de GPIb α , GPIb β et IX est la présence respectivement de 7, 1 et 1 séquences riches en leucines dans leurs structures primaires. La partie extracellulaire de la GPIb α est sensible à l'action de protéases, le clivage d'un premier site proche de la membrane libère un large glycopolypeptide appelé glyco-callicine, le clivage d'un deuxième site localisé plutôt vers la partie NH₂-terminale donne lieu à un fragment de 45 kDa. Dans les deux cas, le clivage est suivi par la perte de la fonction de la molécule.

Complexes GPIIb-IIIa et agrégation

Malgré la présence de nombreux autres récepteurs plaquettaire pour des substrats d'adhérence (par exemple collagène, GPIa-IIa; fibronectine, GPIc-IIa; laminine, GPIc'-IIa; collagène ou thrombospondine, GPIV) ou d'interactions cellulaires

(par exemple la P-sélectine ou la PECAM-1), ce sont les complexes GPIIb-IIIa qui sont les plus étudiés [1, 2]. Le rôle principal des complexes GPIIb-IIIa est d'assurer l'agrégation plaquettaire. Les complexes servent de récepteurs aux protéines d'adhérence telles que le fibrinogène, prioritairement, mais aussi le

vWF, la fibronectine ou la vitronectine sur les plaquettes activées. A la suite de l'adhérence des plaquettes au sous-endothélium, ou de leur activation par des agonistes solubles tels que l'ADP, la thrombine, le thromboxane A₂, etc., les complexes GPIIb-IIIa changent de conformation, permettant au fibrinogène ou à

une autre protéine d'adhérence de se fixer. La GPIIb et la GPIIIa sont codées par deux gènes distincts colocalisés au niveau de la bande q21-23 du chromosome 17. Les complexes se forment très tôt dans la maturation des mégacaryocytes par assemblage dans le réticulum endoplasmique. Ils correspondent au récepteur $\alpha_{IIb}\beta_3$ du sous-groupe de cytoadhésines des intégrines [1, 2]. La GPIIb (α_{IIb}) (145 kDa) est composée de deux sous-unités (codées par un seul gène), une chaîne lourde et une chaîne légère liées par un pont disulfure ([13], *figure 3*). Seule la chaîne légère possède un domaine transmembranaire. La présence sur la chaîne lourde de quatre copies d'une séquence de 12 acides aminés ayant une forte homologie avec le domaine responsable de la fixation du Ca^{2+} sur la calmoduline est caractéristique de cette GP [13]. Le Ca^{2+} joue un rôle indispensable à la fois dans la stabilisation du complexe et dans l'agrégation plaquettaire. La GPIIIa (β_3) (100 kDa) est constituée d'une seule chaîne polypeptidique dont la principale caractéristique est la présence de nombreux ponts disulfures intramoléculaires [13]. Alors que la GPIIb est considérée comme étant exclusivement présente dans la lignée mégacaryocytaire, la GPIIIa (β_3) est trouvée dans de nombreuses autres cellules (par exemple les cellules endothéliales, monocytes, chondrocytes) liée à la sous-unité α , sous forme du récepteur de la vitronectine (VnR) [1, 13].

Différentes séquences du fibrinogène sont impliquées dans sa liaison aux complexes GPIIb-IIIa. D'une première importance est la séquence de 12 acides aminés ($\gamma 400-411$) localisée à la partie C-terminale de la chaîne γ . Également concernée est la séquence RGD (Arg-Gly-Asp), présente à deux reprises (résidus 95-97 et 572-574) sur la chaîne α . C'est la séquence RGD sur d'autres protéines d'adhérence qui permet leur fixation sur les complexes GPIIb-IIIa (*m/s n° 6, vol. 2, p. 337*). Des études de conjugaison avec les peptides radiomarqués ont révélé que le peptide $\gamma 400-411$ réagit principalement avec GPIIb et que la séquence RGD se fixe sur la GPIIIa [14]. Le princi-

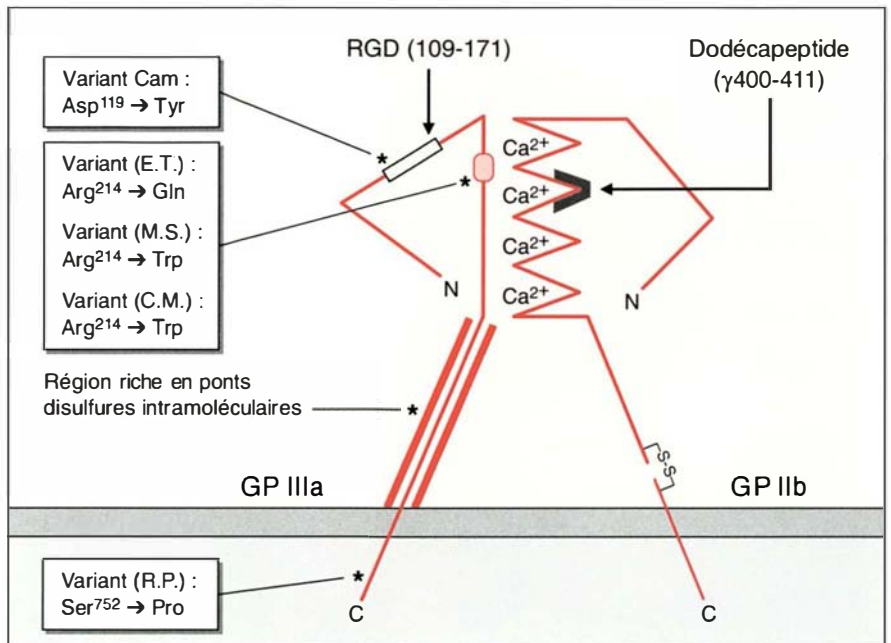


Figure 3. Représentation schématique du complexe GPIIb-IIIa, principal récepteur de l'agrégation plaquettaire. Membre de la sous-classe des « cytoadhésines » de la famille des intégrines, ce complexe est présent en très forte densité à la surface plaquettaire (50 000 copies par plaquette). Dès que les plaquettes sont stimulées, ce complexe subit des changements conformationnels permettant aux protéines d'adhérence de se fixer avec une forte affinité. Le principal cofacteur de l'agrégation plaquettaire est le fibrinogène qui réagit avec le complexe grâce à une séquence ($\gamma 400-411$) appelée le dodécapeptide. Des séquences contenant les acides aminés RGD (Arg-Gly-Asp), présentes à deux reprises sur le fibrinogène, permettent à d'autres protéines d'adhérence (vWF, fibronectine) de se fixer. Le Ca^{2+} est un cofacteur indispensable à l'agrégation plaquettaire, il joue également un rôle dans la stabilité de l'hétérodimère. La thrombasthénie de Glanzmann est une maladie héréditaire de l'agrégation plaquettaire et des complexes GPIIb-IIIa. Nous présentons sur cette figure des mutations responsables de plusieurs variants atteints de ce désordre, mutations qui touchent des sites indispensables à la fixation du fibrinogène (Asp¹¹⁹), la stabilité des complexes (Arg²¹⁴), ou la régulation des sites actifs (Ser⁷⁵²).

pe de l'agrégation plaquettaire est donc devenu clair. L'activation plaquettaire est suivie d'un changement conformationnel au niveau des complexes GPIIb-IIIa avec la formation d'une poche (*ligand-binding pocket*) permettant la fixation des protéines d'adhérence. Le fait que les ligands soient multivalents pour GPIIb-IIIa (plusieurs domaines d'interaction pour le fibrinogène, présence de la protéine sous forme multimérique, vWF) permet l'interaction secondaire de ces protéines avec les com-

plexes GPIIb-IIIa de plaquettes adjacentes et la formation des ponts entre les plaquettes. Normalement, le fibrinogène est le principal cofacteur de l'agrégation, même si certaines données suggèrent qu'aux forces de cisaillement très élevées, c'est le vWF qui se fixe préférentiellement. Autre fait intéressant, la fixation du fibrinogène sur les complexes GPIIb-IIIa ne constitue pas la fin des événements. Des données récentes suggèrent que cette interaction elle-même induit la transmis-

sion d'un signal vers l'intérieur de la plaquette, peut-être grâce à l'oligomérisation des complexes, avec activation des tyrosine kinases et réorganisation du cytosquelette (*m/s n° 2, vol. 9, p. 228*) [15].

La thrombasthénie de Glanzmann

La thrombasthénie de Glanzmann a permis le rapprochement entre l'agrégation et les complexes GPIIb-IIIa, car cette maladie héréditaire récessive comporte un défaut d'agrégation lié à un déficit sévère ou au dysfonctionnement du complexe GPIIb-IIIa [7, 16]. De nombreux laboratoires poursuivent l'étude des anomalies génétiques à l'origine de cette maladie [8]. Nous rappelons que la GPIIb est codée par 30 exons et la GPIIIa par 15 exons. Déjà, on sait que ce sont des mutations ponctuelles qui sont responsables de la plupart des cas. Ces mutations peuvent toucher, soit la GPIIb, soit la GPIIIa [8]. Fait intéressant, dans la maladie classique, ce sont souvent les domaines responsables de la fixation du Ca^{2+} qui sont affectés au sein de la GPIIb. Mais ce sont les patients de type « variant » de la thrombasthénie de Glanzmann, avec des anomalies qualitatives des complexes GPIIb-IIIa, qui ont suscité le maximum d'intérêt (*voir figure 3*). Le premier variant à avoir été étudié possède une mutation Asp¹¹⁹→Tyr dans la GPIIIa [17]. Cette substitution, qui se trouve précisément dans le domaine impliqué dans la fixation de la séquence RGD à la GPIIIa, a pour conséquence une perte totale de la capacité des plaquettes de fixer le fibrinogène. Par la suite, furent rapportées les observations de trois patients non apparentés avec une substitution homozygote de l'Arg²¹⁴ de la GPIIIa (dans deux cas par le Trp, en un cas par la Gln) [18-20]. Cette substitution, dans un domaine impliqué dans l'interaction entre GPIIIa et GPIIb, donne un complexe peu stable et incapable de fixer le fibrinogène à la suite d'une activation plaquettaire. Enfin, a été décrit le cas d'un malade qui, à l'état hétérozygote, possède une mutation Ser⁷⁵²→Pro dans la partie intracytoplasmique de la GPIIIa

[21]. Des expériences de mutagenèse dirigée ont confirmé que cette substitution introduit une anomalie de la signalisation au niveau de la GPIIIa. Cette donnée très importante implique que le domaine cytoplasmique de l'intégrine β_3 contrôle l'affinité du récepteur GPIIb-IIIa pour ses ligands.

Implications pour la thérapie antithrombotique

La définition du rôle des complexes GPIIb-IIIa dans l'agrégation plaquettaire a permis l'évaluation des inhibiteurs anti-GPIIb-IIIa dans les thérapies antithrombotiques. De nombreux arguments suggèrent que les mécanismes responsables de l'hémostase primaire et de la thrombose artérielle au sein d'une plaque d'athérosclérose fissurée sont les mêmes. Après de nombreuses études dans les modèles expérimentaux chez l'animal, l'anticorps monoclonal murin 7E3 (fragments Fab sous forme chimérique) a été testé chez l'homme. Il est actuellement en phase III d'étude. La situation choisie a été l'angioplastie transluminale coronarienne chez les malades atteints d'angor instable [22]. Des résultats encourageants ont été obtenus avec 7E3 à la fois sur la diminution du risque thrombotique et sur la probabilité de resténose dans les mois suivant l'intervention. De nombreuses autres approches sont en cours avec l'utilisation des peptides comportant la séquence RGD et des peptidomimétiques ou d'autres substances synthétiques capables d'inhiber l'interaction de forte affinité entre les complexes GPIIb-IIIa et les protéines d'adhérence. Il existe donc ici un chemin direct entre la maladie génétique et le médicament. Mais l'histoire se poursuit, comme nous l'illustrons par deux récents exemples des travaux de nos deux laboratoires. L'activation plaquettaire est induite par toute une série d'agonistes physiologiques. La détection récente de familles porteuses d'une maladie héréditaire associée à la liaison réduite de l'ADP à son récepteur et à une anomalie fonctionnelle plaquettaire spécifique de la voie induite par l'ADP en est le premier témoin

gnage [23]. Donnée significative, cette anomalie fonctionnelle ressemble beaucoup à celle induite par la ticlopidine (ou le clopidogrel), médicament anti-thrombotique actuellement utilisé [24]. Des récepteurs ou des protéines intervenant dans les voies de l'activation peuvent donc se révéler être des cibles potentielles des médicaments antithrombotiques. La fibrine est une protéine insoluble, résultant de la polymérisation du fibrinogène sous l'action de la thrombine. Elle est le constituant principal des thromboses veineuses, mais aussi, à un moindre degré, des thromboses artérielles. Enfin, la découverte à Paris d'une mutation Arg⁵⁵⁴→Cys dans la chaîne αA de fibrinogène chez un patient susceptible aux thromboses a d'importantes implications [25]. Ici, la mutation entraîne une modification de la structure tridimensionnelle du caillot qui devient anormalement résistant à la fibrinolyse. De telles observations pathologiques renseignent sur les relations structure-fonction des différents partenaires de la formation des caillots, et donc ouvrent la voie à des recherches visant à la modulation pharmacologique de ce phénomène ■

RÉFÉRENCES

1. Nurden AT, Nurden P. A review of the role of platelet membrane glycoproteins in the platelet vessel wall interaction. *Baillière's Clin Haematol* 1993; 6: 653-90.
2. Marguerie G, Berthier R, Duperray A, Hudry-Clergeon G, Uzan G. Les adhésines cellulaires: variations sur un thème. *médecine/sciences* 1987; 3: 326-33.
3. Degos L, Kahn A. Adhésion cellulaire. *médecine/sciences* 1987; 3: 31-5.
4. Roth GJ. Developing relationships: arterial platelet adhesion, glycoprotein Ib, and leucine-rich glycoproteins. *Blood* 1991; 7: 5-19.
5. Lopez JA. The platelet glycoprotein Ib-IX complex. *Blood Coag Fibrinol* 1994; 5: 97-119.
6. Nurden AT, Caen JP. Specific roles for platelet surface glycoproteins in platelet function. *Nature* 1975; 255: 720-2.

7. Bellucci S, Caen JP. Les thrombopathies constitutionnelles. *médecine/sciences* 1985; 1: 404-11.
8. Caen JP, Rosa JP. Platelet vessel wall interaction from the bedside to molecules. *Thromb Haemost* 1995 (sous presse).
9. Vu TK, Hung VI, Wheaton VI, Coughlin SR. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell* 1991; 64: 1057-68.
10. Choi ESH, Hokom MM, Nichol JL, Hornkohl A, Hunt P. Functional human platelet generation *in vitro* and regulation of proplatelet formation. *CR Acad Sci Paris Ser III* 1995 (sous presse).
11. Miller JL, Cisse-Thiam M, Drouet L. Reduction in thrombosis formation by PG-1F(ab')₂, an antiguinea pig platelet glycoprotein Ib monoclonal antibody. *Arterioscl Thromb* 1991; 11: 1231-6.
12. Dreyfus JC. Le facteur von Willebrand et ses anomalies moléculaires. *médecine/sciences* 1991; 7: 606-8.
13. Kieffer N, Phillips DR. Platelet membrane glycoproteins: functions in cellular interactions. *Annu Rev Cell Biol* 1990; 6: 329-57.
14. Plow EF, D'Souza SE, Ginsberg MH. Ligand binding to GPIIb-IIIa: a status report. *Semin Thromb Hemost* 1992; 18: 324-32.
15. Shattil SJ, Ginsberg MH, Brugge JS. Adhesive signaling in platelets. *Curr Op Biol* 1994; 6: 695-704.
16. Nurden AT, Caen JP. An abnormal glycoprotein pattern in three cases of Glanzmann thrombasthenia. *Br J Haematol* 1974; 28: 253-60.
17. Loftus JC, O'Toole TE, Plow EF, Glass A, Frelinger III AL, Ginsberg MH. A β_3 integrin mutation abolishes ligand binding and alters divalent cation-dependent conformation. *Science* 1990; 249: 915-8.
18. Bajt ML, Ginsberg MH, Frelinger III AL, Berndt MC, Loftus JC. A spontaneous mutation of integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (platelet glycoprotein IIb-IIIa) helps define a ligand binding site. *J Biol Chem* 1992; 267: 3789-94.
19. Lanza F, Stierlé A, Fournier D, Morales M, André G, Nurden AT, Cazenave JP. A new variant of Glanzmann's thrombasthenia (Strasbourg I): platelets with functionally defective glycoprotein IIb-IIIa complexes and a glycoprotein IIIa 214Arg \rightarrow 214Trp mutation. *J Clin Invest* 1992; 89: 1995-2004.
20. Djaffar I, Caen JP, Rosa JP. A second case of variant Glanzmann's thrombasthenia due to substitution of platelet GPIIIa (integrin β_3) Arg²¹⁴ by Trp. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 2179-80.
21. Chen YP, Djaffar I, Pidard D, Steiner B, Cieutat AM, Caen JP, Rosa JP. Ser⁷⁹² \rightarrow Pro mutation in the cytoplasmic domain of integrin β_3 subunit and defective activation of platelet integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (glycoprotein IIb-IIIa) in a variant of Glanzmann thrombasthenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10169-73.
22. Topol E, Califf RM, Weisman HF, *et al.* (EPIC investigators) Randomized trial of coronary intervention with antibody against platelet IIb/IIIa integrin for reduction of clinical restenosis: results at six months. *Lancet* 1994; 343: 881-6.
23. Nurden P, Savi P, Heilmann E, *et al.* An inherited bleeding disorder linked to a defective interaction between ADP and its receptor on platelets. Its influence on GPIIb-IIIa complex function. *J Clin Invest* 1995; 95: 1612-23.
24. Herbert JM, Frehel D, Vallee E, *et al.* Clopidogrel, a novel antiplatelet and anti-thrombotic agent. *Cardiovasc Drug Rev* 1993; 11: 180-98.
25. Collet JP, Soria J, Mirshahi M, Hirsch M, Dagonnet FB, Caen J, Soria C. Dusart syndrome: a new concept of the relationship between fibrin clot architecture and fibrin clot degradability: hypofibrinolysis related to an abnormal clot structure. *Blood* 1993; 82: 2462-9.

Alan T. Nurden

Directeur de recherche au Cnrs, URA 464
Cnrs, hôpital cardiologique, 33604 Pessac, France.

Jacques P. Caen

Professeur, directeur de l'institut des vaisseaux et du sang, hôpital Lariboisière, 8, rue Guy-Patin, 75010 Paris, France.

TIRÉS À PART

J.P. Caen.